BAND 34, HEFT 4 FEBRUAR 1959

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci, Mailand / Prof. Dr. H. Braun, Bonn / Prof. Dr. W. B. Brierley, Keswick-Cumberland / Prof. Dr. T. Hemmi, Kyoto / Prof. Dr. N. Hiratsuka, Tokyo
Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. Köhler, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. Müller, Heidelberg
Prof. Dr. H. M. Quanjer, Wageningen / Prof. Dr. T. S. Sadasivan, Madras
Prof. Dr. Tr. Savulescu, Bukarest / Prof. Dr. K. Silberschmidt, São Paulo
Prof. Dr. E. C. Stakman, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. Gäumann Zürich
M. Klinkowski Aschersleben
H. Richter Berlin-Dahlem

Mit 32 Abbildungen

1959
PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 34 Heft 4 *S. 341—444 Berlin 1959*

Postverlagsort Berlin

NSP
RAM
MM

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL
5 MAR 1959

INHALT

Abhandlungen

KIRÁLY, Z., and G. L. FARKAS, Biochemical Trends in Plant Pathology 341

NIENHAUS, F., Über die chemische Bekämpfung von *Phytophthora cactorum*, dem Erreger der Kragenfäule an Apfelbäumen. Mit 7 Abb. 365

LOPRIENO, N., e I. TENERINI, Metodo per la diagnosi precoce dell' «occhio di pavone» dell' olivo (*Cycloconium oleaginum* Cast.). Con 6 figure 385

KÖHLER, E., Weitere Beiträge zur Kenntnis der Virusausbreitung in der Tabakpflanze. Mit 2 Abb. 393

HOFFMANN, G. M., und R. FRITZSCHE, Erdflohfraß und Infektion des Leins durch *Polyspora lini* Laff. Mit 6 Abb. 398

MÜLLER, E., Über drei *Guignardia*-Arten und ihre Nebenfruchtformen. Mit einer Abb. 411

ZWILLENBERG, HELGA H. L., *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. auf Mais und verschiedenen anderen Pflanzen. Mit 7 Abb. 417

GÄUMANN, E., und ST. NAEF-ROTH, Über Lycomarasminsäure, ein Umwandlungsprodukt des Lycomarasmins. Mit 2 Abb. 426

ZOGG, H., Studien über die biologische Bodenentseuchung. II. Beeinflussung der Pathogenität von *Ophiobolus graminis* Sacc. durch die Mikrofloren verschiedener Böden mit verschiedenen Fruchtfolgen. Mit einer Abb. 432

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.

„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.

Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. GÄUMANN, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. KLINKOWSKI, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. RICHTER, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19.

Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 61, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.

Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. RICHTER, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. RICHTER vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 30 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 10—12 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,50 DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 27,40 DM **Einzelpreis 30,— DM**

From the Research Institute for Plant Protection Budapest, Hungary
Director: Dr. G. Ubrizsy

Biochemical Trends in Plant Pathology

By

Z. Király and G. L. Farkas

Contents: I. The role of metabolites and antimetabolites in the infection process. 1. Metabolites. 2. Antimetabolites. — II. Carbohydrate metabolism in the diseased plant. — III. Some problems of nitrogen metabolism. — IV. Nucleic acid metabolism. — V. Some biochemical aspects of prevention and chemotherapy. 1. General principles. 2. Prevention. 3. Chemotherapy. — Summary. — Zusammenfassung. — Literature.

Up to the last few years in plant pathology a prevalent role was attributed to the detailed description of visible symptoms, identification of pathogens and to the empirical application of fungicides and bactericides. However, this discipline underwent remarkable changes during the last 5—10 years. The morphological trend, prevailing in the past, is more and more supplemented or even replaced by physiological-biochemical approach. Emphasis is being laid on new problems, such as pathophysiology of the susceptible and resistant plant, on biochemical problems connected herewith, on the mechanism of action of plant protecting chemicals and on the hitherto seemingly hopeless approach of chemotherapy.

It is realized that even the simple description of a disease cannot lack the thorough investigation of the biochemical processes leading to the macroscopic disease symptoms. There is little doubt, if any, that the biochemical alterations of the hosts metabolism induced by parasitic attack are actually the "primary" symptoms of disease. The processes of the pathologically altered metabolism are certainly much more characteristic and specific for a given disease than any macroscopic symptom. It follows from this postulated specificity that only a part of the biochemical processes of the host are altered (at least in the initial, most decisive stage of disease) and the major problem of the pathophysiological studies of to-day is to find out the most characteristic ones which possibly have special significance concerning the fascinating problem of host-parasite relations. A deeper knowledge of the nature of these interactions and a study of the characteristics of the pathogen at the biochemical level would also provide a more sound theoretical basis for a rational approach of chemotherapy and plant protection.

Of course, it is often very difficult or even impossible to assess the exact role of some metabolic alterations in the overall pathological process. A few general conclusions can be drawn, however, from the results achieved so far.

There is little doubt that a number of different substances are supplied to the parasite by the host tissues (metabolites), whereas other substances secreted by the pathogen or synthesized by the host tissues as a result of parasitic attack mainly act as "destructive" agents leading to metabolic disturbances. From this special point of view the large variety of substances playing a role in the host-parasite relationships can be divided into two large groups, into the groups of metabolites and antimetabolites. In this sense, the various toxins, regardless of their chemical nature, in this essay will be called "antimetabolites".

The classification of some compounds from the above point of view often is not easy. Growth substances play sometimes the role of "toxins", i. e. they lead to metabolic disturbances resulting in macroscopic disease-symptoms; in other cases they may be regarded rather as metabolites because they seem to be essential or favorable for the development of the parasite.

Similar controversies often emerge during the study of the carbohydrate or protein metabolism of the diseased plants as well. For example, intensive oxidative metabolism is seemingly a prerequisite for the invasion of plants by obligate parasites since the diseased tissues must yield energy both for the development of the parasite and for the maintaining of their own metabolic activities. On the other hand, intensive oxidative metabolism can often lead to the synthesis of abnormal compounds which are in some way or other toxic to the host (susceptibility or hypersensitivity) or to the parasite (resistance). Therefore, it is not easy to classify metabolic processes concerning their "significance". The form of presentation of the material in this paper is also more or less arbitrary and necessarily does not lack in contradictions. However, the main purpose of this paper is not an "infallible" classification and interpretation of phenomena but much more to present evidence to support the idea that the establishment of a parasite on a host greatly depends on special biochemical mechanisms and the knowledge of these latter may provide useful data for chemotherapy and scientific plant protection.

The essay will not attempt to cover all aspects of the problem. Rather, it will consider the main lines of research presenting characteristic type-examples and in the literary quotations is also limited to this program.

I. The role of metabolites and antimetabolites in the infection process

From the point of view of host-parasite relations a high significance may be attributed to the vitamin and amino acid content of the plant tissues. Some microorganisms are well known to be deficient in certain vitamins, amino acids, purine and pyrimidine bases. Their requirements may be highly different from case to case. Not only various species but also single races or strains may exhibit differences in this respect. A special requirement which

cannot be fulfilled by a wide variety of hot species (or varieties) may lead to the well known phenomenon of physiological specialization or eventually results in a complete incompatibility of the two organisms, i. e. in "avirulency" or resistance. Interesting examples in the field of plant pathology are represented by the avirulent mutants of *Venturia inaequalis* (KEITT and BOONE 1954) and *Erwinia aroideae* (GARBER 1954), which are deficient in different purine and pyrimidine bases and in amino acids.

1. Metabolites

The importance of metabolite content of the host tissues is clearly indicated by the work of SUHORUKOV and associates (1952) carried out on carrot varieties which exhibited various degrees of resistance against the *Sclerotinia* fungus. The quantity of bios-substances was considerably lower in the roots of resistant varieties than in those of susceptible ones. Therefore it seems, that for *S. sclerotiorum* the vitamin content of the host tissues is of the highest importance.

The significance of folic acid both for pathogenic fungi and viruses has been demonstrated by the application of suitable vitamin antagonists (sulfanilamides) which when fed to the tissues, selectively inhibited the development of the parasite or the virus increase (STODDARD 1944, SARDINA and CORDON 1949, HASSEBRAUK 1952 a, RHYSKOV 1957). In addition RHYSKOV and MARCHENKO (1954) found that the multiplication of tobacco mosaic virus in the tobacco plant is positively influenced by folic acid fed to the tissues. Folic acid is known to play an important role in the nucleic acid synthesis of living organisms. It is not surprising, therefore, that with obligate parasites (viruses and rust fungi) its indispensable role was successfully demonstrated.

In some cases metabolic disturbances in the diseased tissues, for example decrease in the activity of certain enzymes [cf. glycolic acid oxidase and glutamic decarboxylase in rusted wheat (KIRÁLY and FARKAS 1957 b, c)] may well be due to the utilization by the parasite of vitamin cofactors needed for enzyme activity (FARKAS, in press).

It is clear from all that has been said above that metabolites play an important role in the development of plant diseases. It is not surprising, therefore, that antimetabolites are often regarded as promising chemotherapeutic agents against plant diseases. Sometimes, however, parasites are protected against antimetabolites by their own metabolic products. Thus the honey dew (formed on rye ears upon ergot infection and containing ergot conidia) neutralizes the effect of experimentally added antimetabolites (salicylic acid, sulfonamides) on the germination of ergot conidia (GARAY and KÖKÉNYESY 1956). The nature of these "antimetabolite-antagonizing" metabolites is hardly known.

2. Antimetabolites

The success or failure of a parasite to become established on a host may depend to a great extent on antimetabolites secreted by the pathogen but also

may depend on antimetabolites present in the plant tissues and acting against the invading organism. In the latter case distinction is to be made between antimetabolites synthesized in the healthy tissues and those produced by the host under the influence of infection.

a) T o x i n s. Some antimetabolites of the pathogen are frequently called toxins. In some cases the mechanism of action and the chemical structure of these antimetabolites has already been elucidated.

The toxin of *Pseudomonas tabaci* causing the wildfire disease of tobacco has been identified as a structural antagonist of an essential amino acid. The isolated pure toxin is also able to produce the halo surrounded leaf spots characteristic for the disease (JOHNSON and MURWIN 1925). The structure of the toxin was established by WOOLLEY and co-workers (WOOLLEY, PRINGLE and BRAUN 1952). It is indicated that a simple derivative of a new amino acid, α, ε-diamino-β-hydroxypimelic acid is involved. By model experiments conducted with *Chlorella* it was shown that the toxin is an antagonist of methionine. This idea is also supported by the fact that the typical disease symptoms were successfully evoked by methionine sulfoximine, a compound similarly antagonistic to methionine.

Lycomarasmin, one of the toxins of *Fusarium lycopersici* which is possibly responsible for some symptoms of the wilt disease of tomato, in bacterium cultures has revealed antagonistic effects against a growth substance called "strepogenin". According to WOOLLEY (1946) the toxin is a tripeptide consisting of aspartic acid, glycine and a new amino acid, α-hydroxyalanine. Strepogenin was claimed to be also a tripeptide having a structure similar to that of lycomarasmin. WOOLLEY synthesized a peptide (seryl-glycylglutamic acid) which exhibited an appreciable "strepogenin effect". By the application of this substance or strepogenin the toxicity of lycomarasmin in tomato leaves could be overcome. All these observations have led WOOLLEY to the conclusion that the toxicity of lycomarasmin is partly due to its antimetabolite character.

The action of fusaric acid, a metabolite of *Fusarium* fungi produced by the pathogen in the host tissues (KERN and KLUEPFEL 1956, GÄUMANN 1957) is entirely different in nature. Among others it has been demonstrated that through chelate formation the metal ions are bound by this toxin in the tissues resulting in the inhibition of Fe-porphyrin oxidases and actually also in that of respiration (TAMARI and KAJI 1954). In purified preparations the enzyme inhibition could be removed by Fe^{+++}ions.

In addition to fusaric acid a chelate formation is attributed to some other plant toxins such as picolic acid and lycomarasmin (DEUEL 1954). Lycomarasmin was shown to highly toxic just as a Fe-chelate (GÄUMANN, NAEF-ROTH and KERN 1955).

A number of facultative parasites (including several species belonging to various genera as *Botrytis, Pythium, Verticillium, Fusarium, Sclerotium, Erwinia aroideae)* attack the host tissues by toxin compounds of enzyme character. The best known are the pectic enzymes inducing the symptoms of soft rot. As a rule the symptoms could be evoked by crude or purified en-

zyme preparations as well. The mechanism of action of these enzymes consists in the hydrolysis into pectic acids of the pectin by splitting off the methyl groups (pectinmethylesterase) and in the breaking of the 1,4-glycosidic linkages of the chains built up of anhydrogalacturonic acid residues, which results in the production of smaller (polygalacturonase) or larger (depolymerase) sized units (WOOD 1955). According to GOTHOSKAR et al. (1955) the principal symptoms of tomato wilt caused by *Fusarium* are mainly due to the activity of pectinmethylesterase and depolymerase. The derivatives of pectic substances liberated from the cell walls by these enzymes swell and plug the conducting vessels, thus preventing the transport of water. The symptoms of cotton wilt caused by *Verticillium dahliae* are also due (at least partially) to similar enzymatically induced processes.

Cell-wall splitting enzymes were recently discovered also in the uredospores of *Puccinia graminis* (VAN SUMERE, VAN SUMERE-DE PRETER and LEDINGHAM 1957). It is reasonable to suppose that they play an important role in the infection process.

b) Growth substances. Growth substances may be regarded as a special group of "toxins" produced in some host organisms by a number of pathogenic bacteria and fungi. The superabundant production of growth substances in special cases may lead to tumor development. Tumor formation has been induced in host tissues by treatment with pure indoleacetic acid or auxin-analogues in adequate concentration. Tumors induced by chemical means on the leaves and reproductive organs of corn are similar to the natural galls caused by the smut fungus (*Ustilago zeae*). Since these latter contain considerable amounts of indoleacetic acid (in contrast to the low indoleacetic acid content of the healthy tissues) and since this compound is produced by the fungus in pure culture as well, the role of indoleacetic acid in tumor formation may be taken for granted (WOLF 1952).

The situation is essentially the same in case of the bacterial crown gall (*Agrobacterium tumefaciens*). It may be of interest to note that if indoleacetic acid is supplied to the plants, some *A. tumefaciens* strains, which otherwise do not produce tumors, will also evoke tumor-development (DE ROPP 1951).

Recently it was revealed by PILET (1953) and WOLF (1956) that in host tissues attacked by various species of rust fungi the concentration of indoleacetic acid is increased. The increase in indoleacetic acid in leaves of susceptible wheat varieties infected with *Puccinia graminis* was also established by SHAW and HAWKINS (1958). WOLF (1956) succeeded in demonstrating on a special strain of *Gymnosporangium juniperi-virginianae* isolated by HOTSON and CUTTER (1951) (which can be cultivated on artificial media) that the growth substance is produced by the fungus.

The exact role of growth substances in the diseases caused by obligate parasites remained unknown up to the present. However, it has been shown that indoleacetic acid in adequate concentrations stimulates the germination of rust uredospores (VAN SUMERE et al 1957); the level of growth substances

in the host, therefore, may be decisive for the first phases of disease development. Of course, the level of growth substances in the host tissues may also influence the later phases of disease development and can actually alter the reaction-type given by the host plant upon infection. In the experiments of SAMBORSKI and SHAW (1957) indoleacetic acid treatment slightly increased the rust resistance of wheat, whereas treatment with maleic hydrazide resulted in marked breakdown of resistance.

DAVIS and DIMOND (1953) obtained fairly unequivocal results by treating tomato plants with different (natural and synthetic) growth substances: in all cases the *Fusarium*-resistance increased. The same was found by SERRANO (1955) concerning the late blight *(Phytophthora infestans)* of potato.

In the foregoing our attention was focussed mainly on the antimetabolites excreted by the pathogens or produced by the host tissues upon infection. In both cases the antimetabolite is the result of the host parasite interaction. However, certain compounds of antimetabolite character may be present in the healthy plant, independently from the infection process. They frequently prevent the penetration of microorganisms already at the spot of entry. Recently MARTIN et al. (1957) have shown for example that the ether-soluble acidic fraction of the apple leaf wax, has some fungistatic properties and plays some part in the defensive mechanism of the apple leaf to *Podosphaera leucotricha.* The properties of this fraction are very similar to those of the phenolic compound detected by SPENCER et al (1957) in exudates of broad bean.

More recently VIRTANEN and co-workers (1957) isolated some antifungal factors from various plants. The antifungal substance of rye was established as 2(3)-benzoxazolinone, and that of the wheat and maize plants as 6-methoxy-2(3)-benzoxazolinone. The active substance in red clover is an aromatic phenol, and that in potato leaves (VALLE 1957) is chlorogenic acid.

In addition HAFIZ (1952) has shown that the solution collected from the foliage of *Mycosphaerella* resistant *Cicer arietinum* varieties is toxic to the fungus owing to its high malic acid content. The acidity of the host tissues was often brought into correlation with the resistance of plants to various microorganisms, however, the observations as a rule were highly contradictory.

More uniform results were achieved concerning the role of phenolic compounds in resistance, therefore, it seems justifiable to discuss this problem in a separate section.

c. Phenolic substances. As shown by WALKER (1923) protocatechuic acid and catechol diffusing into the infection drop on the leaf surface from the dry pigmented outer scales of the resistant varieties may be made responsible for resistance. It is interesting to note that the *Cercospora* resistance of certain sugar-beet varieties is also concerned with germination inhibiting substances diffusing out to the leaf surface (KOVÁCS 1955).

Another thoroughly investigated case is the problem of the scab resistance of potato varieties. As shown by JOHNSON and SCHAL (1952, 1957) the chlorogenic acid content of potato varieties resistant to the common scab

(*Streptomyces scabies*) is higher than that of the susceptible ones. MÜLLER and BEHR (1949) suggested as early as 1949 that also the *Phytophthora* resistance of potato varieties is based on the presence of phenol derivatives. These ideas were essentially confirmed by recent investigations of RUBIN and AKSENOVA (1957). The resistance of the potato tuber to various fungi, therefore, seems to be based, at least partially, on phenolic substances (cf. KUC 1957).

The importance of the phenolic compounds is also revealed in the case of *Fusicladium* resistance of pear varieties. RUDLOFF (1935) and SIEBS (1955) found that in the leaves of resistant pear varieties the level of free toxic hydroquinone is higher than in those of susceptible plants. The arbutin which is generally not toxic to the fungus also plays an important role in resistance: it will be split into glucose and hydroquinone by enzymes secreted by the fungus. It is shown by KIRKHAM (1957) that there is more chlorogenic acid in the *Fusicladium* resistant apple varieties than in the susceptible ones, whereas resistant pear varieties contain more arbutin, more chlorogenic and isochlorogenic acid. It may be seen from these examples that an important fungicidal action must be attributed to the phenolic compounds widely distributed in the plant kingdom.

Although certain fungi-toxic antimetabolites may be present in the intact plant, an important role should occasionally be attributed also to antimetabolites formed during the responsive reactions of the infected tissues. The fungicide substances produced in connection with the changed oxidative metabolism of the diseased plant are mainly oxidation products of phenolic compounds. This aspect of the problem will be discussed in a later section. The results obtained by NIENSTAEDT (1953) concerning the resistance of sweet chestnut species to *Endothia parasitica* should be mentioned as supplementary data. NIENSTAEDT claimed that the tannins of the resistant species are more toxic than those of the susceptible ones. In this case the tannins are decomposed into phenolic compounds as a result of an enzymatic attack of the pathogen. Thus the activity of the fungus is practically accompanied by "self poisoning".

From the examples referred to above, it appears that more and more data are accumulating to show the high importance of phenolic compounds and their derivatives in the infection process.

II. Carbohydrate metabolism in the diseased plant

The host plant may be regarded as the "living culture medium" of the parasite and serves as a source of energy for its development. The intense photosynthesis of the host tissues, therefore, is a condition of outstanding importance for the parasite development in green tissues. The carbohydrate supply is not simply utilized by the pathogen but, as as rule, the whole carbohydrate metabolism is altered in the host-parasite complex.

In the initial stages of disease development the diseased tissues may exhibit a higher photosynthetic rate (SEMPIO 1950, KIRÁLY and FARKAS 1953)

and accumulation of carbohydrates at the site of infection has also been observed (ALLEN 1942). By the application of $C^{14}O_2$ it was demonstrated that the assimilated carbohydrates were translocated towards the infection courts which results in an appreciable accumulation of dry matter (SHAW and SAMBORSKI 1956). The distribution of phosphorus in the infected plant organs also indicates a gradient-like increase in phosphorus compounds around the site of infection (GOTTLIEB and GARNER 1946). The accumulation of different substances in and around the infection courts is based on an "active process" which may be inhibited by respiratory inhibitors, anaerobic conditions etc. and at least in case of obligate parasites it is one of the most characteristic features of the disease (SHAW and SAMBORSKI 1956, 1957).

All that has been said above is valid first of all for plants infected by obligate parasites. Very often an analogous picture emerges in the case of other diseases too but changes of different character, such as decrease of the carbohydrate level and hydrolysis of the complex carbohydrates were also observed [See BODNÁR's data (1915) concerning the root rot of sugar beets and the reviews by KUPREVICH (1947) and ALLEN (1954)].

The characteristic trend of translocation of carbohydrates in plant tissues infected by obligate parasites makes probable that the mechanism of energy yielding processes may undergo considerable changes at the site of infection. It was really observed by DOBY (1911, 1912) as early as 1911, that in potatoes infected with leafroll virus the activity of several oxidative enzymes is increased. This observation and the finding that the protein and starch content simultaneously decreases led him to the conclusion that respiration of infected tissues is certainly increased. Subsequently it was really observed by a number of authors that in most cases the respiration of infected tissues is greatly increased. Today the mechanism of this parasitically induced respiratory increase is in the focus of interest. Thus the analysis of the respiratory increase in sweet-potatoes infected by *Ceratostomella fimbriata* has shown that it is induced (at least partially) by abnormal metabolites formed at the site of infection (URITANI et al. 1954). One of these metabolites (ipomeamarone) was shown to stimulate the ATP-ase activity of isolated mitochondria and to inhibit thereby the oxidative phosphorylation ("uncoupling"), similarly to 2,4-dinitrophenol. Since uncoupling of oxidative phosphorylations from respiration is generally accompanied by an increase in O_2-uptake (LOOMIS and LIPMANN 1948) the parasitically induced respiratory increase was partly attributed to the uncoupling action of the toxin. This "new type" of respiration in the infected tissues is certainly of defensive character since the oxidative metabolism of the pathogen is also injured by the toxin and its development will be inhibited.

Simultaneously other defence reactions are also activated in the infected sweet potato which may act, however, in similar way. The polyphenolases are activated at the site of infection. Simultaneously chlorogenic acid accumulates around the infected tissues which equally inhibits oxidative phosphorylation of the pathogen and may be regarded as an "antiseptic" factor (URITANI and AKAZAWA 1955).

Studies conducted by Fuchs (1956) and Fuchs and Kotte (1954) have led essentially to similar results. Poisonous oxidative derivatives of polyphenols were shown to accumulate in the *Phytophthora*-infected potato tuber. This process is particularly intense in the resistant varieties, so that the accumulation of these derivatives finally leads to the killing of the host tissues preventing in this way the further development of the pathogen ("hypersensitivity") (Rubin et al. 1947). The application of respiratory inhibitors (especially of those inhibiting Cu-enzymes) has prevented the accumulation of oxidation products in the host tissues and thereby greatly reduced resistance (Fuchs and Kotte 1954). It follows from this that the respiratory systems of potato, first of all the polyphenolases play an important role in the defence reactions of the host plant. This was postulated by Szent-Györgyi and Vietorisz (1931) on the basis of theoretical considerations.

In other "polyphenolase"-plants the activation of the enzymes in the infected tissues could also be demonstrated both by direct measurement of the enzyme activity and by the accumulation of oxidative products. Marked increase in polyphenolase activity was observed e. g. in *Piricularia* infected rice (Abumiya and Kobayashi 1954), in *Verticillium* infected cotton (Rubin et al. 1952), and in *Fusarium* infected tomato (Menon and Schachinger 1957). The increase in enzyme activity was generally shown to be higher in the resistant varieties.

Increase in peroxidase activity in the infected tissues is also a widespread phenomenon. Parallelism between the increase in enzyme activity and the degree of resistance of the variety concerned has been claimed by Gretchusnikov and Jakovleva (1950). Similar experiments were made with potato varieties in connection with the mechanism of *Phytophthora* and potato wart resistance and essentially the same results were obtained.

In addition to the enzymes acting on phenols as substrates, other systems may also play a role in the mediation of the parasitically induced respiration. Thus strong activation of the CN-resistant fraction of the respiration was observed by Rubin and Chetverikova (1955) in cabbage infected with *Botrytis*. At the same time cytochrome oxidase was inactivated in the tissues.

By contrast, the terminal oxidation of rusted wheat tissues is mediated largely by metal containing enzymes. Evidence has been presented in favor of the idea that ascorbic acid oxidase is the terminal catalyst (Király and Farkas 1956, 1957 a), whereas the relative contribution of cytochrome oxidase should be diminished. As a matter of fact the whole respiratory pattern is dramatically changed in the infected tissues. On the basis of inhibitory studies carried out with malonate the authors came to the conclusion that a considerable fraction of the parasitically increased respiration bypasses the Krebs cycle (Király and Farkas 1955, Farkas and Király 1955). Really, it has been demonstrated by Shaw and Samborski (1957) using elegant tracer methods that the pentose phosphate pathway is greatly activated in wheat as a result of infection. Stimulation of the pentose phosphate pathway was also demonstrated by Daly and co-workers (1957) for rusted safflower tissues.

In the case of wheat infected with stem rust POZSÁR and KIRÁLY (1958) have recently shown that the augmented O_2-consumption is in connection with an inhibition of oxidative phosphorylation ("uncoupling") in consequence of which the phosphorus metabolism of the infected leaf tissue undergoes an alteration just as in the case of 2,4-dinitrophenol-treatment. In both cases a higher level of inorganic phosphorus and P-acceptors resulted in a stimulation of respiration.

Decrease in the percentage values of malonate inhibition suggesting new pathways bypassing the normal Krebs cycle seems to be a fairly widespread characteristic of the pathologically altered metabolism (HEITEFUSS 1957: cabbage infected with *Peronospora;* SCHEFFER and COLLINS 1957: tomato infected with *Fusarium).*

This latter phenomenon is interesting insofar as the multiplication of some viruses proceeds undisturbedly just when the tricarboxylic acid cycle intensively operates. Virus multiplication has been reported to be more intense when intermediates of the cycle were fed to the host tissues. Malonate and other respiratory inhibitors suppress the virus multiplication (RHYSKOV and MARCHENKO 1954, NOUR-ELDIN 1955). Since viruses are devoid of respiratory enzymes, metabolites and antimetabolites exert their effect indirectly through the metabolism of the plant.

It is customary to class also catalase among the respiratory enzymes although its real function is poorly known as yet. The activity of catalase generally decreases in virus-infected plants (GIMESI and POZSÁR 1954, VAGER 1955). On the contrary, in rust-infected wheat a strong increase of catalase activity was observed (LE-TOURNEAU 1955). There are not many reliable data available as to the pathophysiological role of catalase. Nevertheless, in some cases its importance is beyond any doubt. Thus it is known that the naturally produced ergot conidia contained by the honey dew appearing on infected rye heads are more infectious than the conidia of the same fungus grown on nutrient media. An explanation to account for this phenomenon is given by the strong catalase activity of honey dew, protecting in this way the germinating conidia which are extremely sensitive to peroxide. This "protective factor" is absent in artificial *Claviceps* cultures (GARAY 1956).

III. Some problems of nitrogen metabolism

Concerning the general trend of nitrogen metabolism of infected plants the available data are rather inconsistent. In some cases the total nitrogen content of the fungus-infected organs decreases. Thus decreases in total nitrogen were recorded by LEPIK (1939) in *Phytophthora* infected potato tuber, COONS and KLOTZ (1925) in celery leaves infected with *Septoria apii,* by GRÜMMER (1955) in poppy leaves infected with *Helminthosporium papaveris* etc. As a rule this change is associated with the decomposition of proteins mainly due to the breakdown of the cell structure, generally connected

with an increased activity of proteolytic enzymes. At the same time the desaminases also may be activated in the tissues, in consequence of which their free ammonia content increases. A striking increase in ammonia was reported by KUPREVICH (1947) in oak leaves infected with *Microsphaera alphitoides* and by RIKER (1939) in tomato tumors. These changes are generally due to the fact that after having consumed most of the carbohydrates the parasite may use amino acids as respiratory substrates (MOYSE 1950).

Although the high activity of proteolytic enzymes is often characteristic for the tissues of infected plants, in some cases the protein content of the whole host-parasite complex may increase. This protein increase is due first of all to the protein synthesis of the pathogen but an actually stimulated protein synthesis in the sound tissues around the infection court has also been observed (AKAZAWA 1955, TOMIYAMA et al. 1956). In some cases no protein nitrogen compounds of the host tissues are preferentially utilized by the pathogen for synthetic processes. More frequently, however, a partial decomposition of the proteins in the host tissues delivers building blocks for the protein synthesis of the parasite (KUPREVICH 1947).

In consequence of fungus infections a decrease in non-protein N-compounds generally may be observed in mature crop plants (KUPREVICH 1947). The same phenomenon is characteristic also for virus infections. The level of free amino acids declines in the host plant and the quantity of certain amino acids falls below the limit of detection. It was shown that proline is missing in rice plants showing "Bakanaë effect" caused by *Gibberella* (ANDAL and SUBBARAO 1956), whereas decrease in tryptophane is characteristic for bean leaves infected by tobacco mosaic virus or yellow mosaic virus (LALORAYA 1955). The amount of proline and arginine also decreases in tomato if infected by tobacco mosaic virus.

However, it would be premature to draw general conclusions as to the effect of parasites on the amino acid composition of the host tissues since the level of some amino acids may actually rise in the infected plant. It is noteworthy that an increase in amino acids concerned with the highly important process of transamination (glutamic-, aspartic acids and their amides) were reported to occur both in virus diseased and rusted tissues (LALORAYA et al. 1956, REINDEL and BIENENFELD 1956, ROHRINGER 1957, SHAW 1957). These amino acids may have a special role in the intensive protein synthesis connected with the spreading of the parasites.

A few workers endeavored to find relations between the resistance of the host tissues and their nitrogen metabolism. Thus LAKSHMINARAYANAN (1955) stressed the point that the ratio of non protein and protein nitrogen remains unchanged under the effect of infection in cotton varieties resistant to the *Verticillium* wilt, whereas a substantial decrease may be noted in the susceptible ones. Other workers using electrophoretic and polarographic methods tried to discover some characteristic features in the chemical composition of the proteins which may be associated with resistance (JOSEPOVITS and UBRIZSY 1955, BARRETT and MCLAUGHLIN 1954).

IV. Nucleic acid metabolism

The nucleic acid metabolism of tissues infected by fungi and bacteria was hardly investigated. Much more attention has been paid to the nucleic acid metabolism of virus diseased plants.

There are indications that nucleic acids of the host tissues serve as precursors for the virus nucleic acid synthesis. It could be established that the strikingly high ribonucleic acid content of plant viruses is synthesized at the expense of the ribonucleic acids of the host tissues. In chloroplasts isolated from tissues infected by *Abutilon* mosaic virus a strong decrease in ribonucleic acid was observed (Pozsár 1957). Basler and Commoner (1956) found, moreover, that in infected tobacco tissues insoluble nucleic acids accumulate before the appearance of mosaic virus and simultaneously their amount gradually decreases with the appearance of virus particles. The excess in uracil, cytosine and adenine accumulated at this early stage was nearly equal to the quantity of purine and pyrimidine bases present in the virus nucleic acid after formation of virus particles. Thus the nucleic acids accumulating in the plant before the actual appearance of tobacco mosaic virus may be considered as precursors of the virus nucleic acid.

Recently the protein metabolism of virus-infected tissues became a central problem of virus research (Bawden and Pirie 1952 a). The multiplication of virus particles in the infected plant differs entirely from the multiplication of bacteria and this is not the same process as the transformation of enzyme precursors to enzyme molecules. According to Bawden and Pirie (1952 b) the multiplication of viruses much rather may be regarded as a typical metabolic disorder concerning first of all the nucleoprotein metabolism of the host plant. Virus multiplication, therefore, is not a simple replication of the original infectious nucleoprotein particle. Recent experimental evidence has raised some doubt as to the self-replicating character of the tobacco mosaic virus particle. Bawden (1956) isolated a strain of the tobacco mosaic virus which exhibited different pathological, antigenic and other properties after a passage on beans, e. g. it produces systematic infection on bean leaves instead of the usual local necroses. The amino acid analysis of the purified virus preparation revealed that the virus protein isolated from beans contains histidine, whereas this amino acid is absent in the isolate from tobacco. Thus, there is a considerable difference in the chemical composition of the nucleoprotein particles of the same virus strain depending on the host in which they multiplied (tobacco or beans). Furthermore, when the virus strain originating from beans multiplies in tobacco, but at a temperature above 30 ° C, a histidine containing virus, corresponding to the bean strain appears in the tissues, in addition to the normal tobacco strain. By contrast, at temperatures less than 30 °C only the standard mosaic virus — without histidine — multiplies in the tobacco. It is clearly indicated, therefore, that the virus nucleoprotein produced in the infected plant may differ considerably from the character of the inoculum, i. e. it may be seen that the final product of virus multiplication is determined by the physiological properties of the host plant.

According to the experiments of Gierer and Schramm (1956) the purified ribonucleic acid component of tobacco mosaic virus is able to initiate the whole process of virus multiplication. Therefore, differences in the protein component of the nucleoprotein particles formed in different host plants (beans or tobacco) really must be due to differences in the metabolism of the host plants.

From the isolated protein component of tobacco mosaic virus and from a deoxyribonucleic acid isolated from tobacco leaves a special DNA-nucleoprotein was recently produced by Wang and Commoner (1956). This nucleoprotein was able to infect tobacco. During its multiplication, however, it did not give rise to the formation of DNA-containing virus nucleoproteins but initiated the biosynthesis of "normal" virus particles containing RNA as a nucleic acid component. These experiments supplied further evidence in favor of the idea that the multiplication of virus particles is not simple self-replication but a more complicated process connected with a special metabolic disorder of the plant. A highly important role is played in this process by the type of the host metabolism.

In addition to nucleic acid precursors mentioned above, the presence in virus infected plants of some abnormal protein components were demonstrated by several authors, the immunological properties of which are similar to those of the virus. These proteins do not contain any nucleic acid and they are not infective either (Van Rysselberge and Jeener 1957). On the basis of isotope experiments these authors concluded that these proteins must really be precursors of the protein part of tobacco mosaic virus. In vitro these abnormal protein components may form aggregates which — without being infective — are structurally similar to the virus particles.

Studies on the aggregation of non-infective precursors or degradation products (resynthesis) seem to be exceptionally successful in the elucidation of the problem of virus synthesis in vivo. Following up this line Fraenkel-Conrat and Williams (1955) and other workers have demonstrated that the degradation protein product prepared from the virus and the RNA component previously isolated from the virus, may produce some aggregates which are infectious nucleoproteins similar to the normal virus particles. This in vivo aggregation ("reconstitution") may serve as a model for the plant virus synthesis occuring in vivo. In this sense, the protein part of virus nucleoprotein derives from the abnormal protein components of the cell and forms an aggregate with the ribonucleic acid to yield the infective nucleoprotein.

V. Some biochemical aspects of prevention and chemotherapy

1. General principles

The chemical protection of plants against pathogens is mainly based on two principles: 1. The preventive method endeavours to kill the pathogen which is established on the surface of the plant. For this purpose non selective, elements or compounds are also to be used with success. 2. The chemotherapy strives to eliminate the pathogen from the infected or diseased

plant. In this latter case only compounds of selective toxicity may be considered. Up to the present prevention in plant protection was based just exclusively upon empirical observations and is based even nowadays preponderantly on them, whereas chemoterapy more often made use of the discoveries of "pure science". Of course, chemotherapy was of minor importance in plant protection up to the latest times. The recent developments in plant physiology and plant biochemistry and the rapid progress of our physiological as well as chemical knowledge in the field of microbiology resulted in a definite biochemical trend in plant protection and particularly in plant therapy.

Our knowledge concerning the mode of action of plant protecting chemicals and drugs in general is very restricted at present. We can offer only two alternatives as an explanation for the mechanism of drug action, either the phenomenon of competitive inhibition or that of the complex formation. A sound interpretation of other cases is rather difficult. A new possibility for the mechanism of action was recently suggested by SZENT-GYÖRGYI (1956) indicating that "drugs" may have a definite influence on the phenomenon known in physics as "electronic excitation" and may exert their action in such an "energetic way".

2. Prevention

Though the chemicals employed for chemical prevention have no selective effect towards the host plant, owing to the difficulties of penetration, as a rule, they are not injurious. Many of them react with the cytoplasmic proteins of the pathogens. The chemicals of copper-, mercury- and substituted quinone-type are linked mainly to the sulfhydryl groups of protein (enzyme) molecules. Formaldehyde and partly also the substituted quinones react with the free amino groups of the proteins, whereas the quaternary ammonium compounds are linked to the carboxyl and hydroxyl radicals. From all this it is evident that some plant protecting chemicals may act simultaneously on proteins (enzymes) of quite different nature (function), only the presence of an identical "point of attack" an identical reactive group (e. g. SH radical) is required. These chemicals, therefore, are not at all or hardly specific. — In the following we refer to some examples in which a higher or lesser degree of specificity has been demonstrated or claimed.

Sulfur, a typical example of plant protecting chemicals appears to interfere with some steps of biological oxidations (hydrogen transfer) in fungi (SCIARINI and NORD 1943, MILLER et al. 1953). Evidence has been presented that sulfur plays the role of an H-acceptor and consequently H_2S arises instead of H_2O as an end product in the reaction chain of biological oxidations. The normal balance between H-acceptors and donors, therefore, is upset by sulfur (studies on *Fusarium* sp.).

According to GOKSOYR (1955) the active principle of dithiocarbamate type chemicals is fixed on a determined place on the cell membrane and here reacts competitively first of all with Coenzyme A or other thiol enzymes. But the mode of action is not yet cleared sufficiently.

The metal containing enzymes are inactivated by hydroxiquinoline chemicals through complex formation.

The substituted naphthoquinones may exert a further effect of quite different nature. 2,3-dichloro-1,4naphthoquinone (Phygon) is the structural analogue of the vitamin K and the effect of this chemical is partly explained by competitive vitamin antagonism (Woolley 1945). This is a good example to show that antimetabolites can be applied successfully in plant protection and to indicate that not only chemotherapy but also preventive control may be based on biochemical principles.

N-trichloromethylthiotetrahydrophthalimide (Captan) represents one of the most recent types of plant protecting chemicals. Chromatographic studies revealed that pyruvic acid accumulated in *Fusarium* conidia treated with Captan. The compound inhibits the decarboxylation of pyruvic acid and this inhibition may be overcome by the addition of small amounts of thiamine pyrophosphate (cocarboxylase) (Hochstein, Cox and Sisler 1954).

The mode of action of the externally applied protective chemicals is often deeply influenced by the pathogens and sometimes by the host plants as well. Thus the insoluble copper ingredient of the Bordeaux mixture is rendered soluble by substances present in leaf excretions (Curtis 1944). Recently Martin and Somers (1957) have demonstrated, that leaves of apple and other plants and the water-soluble acids associated with leaf waxes are capable of solubilizing copper from spray deposits. The role played by the pathogen in the same process may also be important. It was shown by McCallan and Wilcoxon (1936) that the copper is converted into easily soluble toxic acid-copper complexes by the exudates of the spores such as hydroxy and amino acids.

The question of penetration and the fate of the penetrated compound is of paramound importance in case of seed treatments. Bodnar and Terényi (1930, 1932) have shown that copper may be removed from the bunt spores after seed treatment for example by moist soil and in this case the spores regain their germinating power. On the contrary, the effect of some mercury compounds ($HgCl_2$, $HgBr_2$) is irreversible.

The metabolites of the pathogen may have an advantageous or inhibitory effect on the plant protecting chemicals which penetrated the plant tissues. Examples for this recently were reviewed by Gottlieb (1957).

3. Chemotherapy

a. Fungal and bacterial diseases. The basic requirement of chemotherapy is the selective toxicity of the compounds applied. Recent achievements in the field of comparative biochemistry revealed that the fundamental biochemical processes of pathogenic microorganisms and higher host-organisms are very similar. This is clearly indicated among others by the relatively low number of energy-yielding reactions (there are only 7 pathways which provide energy for the synthesis of ATP). Therefore, we can hardly interfere with the energy-yielding processes in a selective way (Krebs 1954). The basis of chemoterapy is to be looked for rather in the anabolic,

synthetic reactions which may exhibit more significant differences between host and parasite. It is emphasized especially by COHEN (1954) that chance for selectivity is really indicated by the experimental data obtained so far. Thus e. g. a special pyrimidine (5-hydroxymethylcytosine) occurs in large quantities in a small group of bacterial viruses which is not present in any other virus, bacterium, plant or animal cell examined up to the present. On the other hand, 5-methylcytosine, present in plants and animals, does not occur in any bacterium or virus. An interesting difference exists between the aldolase enzyme of microorganisms and higher plants too. In yeast and *Clostridium* aldolase is a Fe-containing enzyme, whereas the corresponding ferment of higher plants does not contain metal. If these specific substances play any major role in the metabolism of the organisms concerned, the interference with their synthesis may be a rational approach of chemotherapy. Of course, the practical realization of these ideas, if tried at all, has often met considerable difficulties. Notwithstanding, some initial success in this respect has already been obtained in the field of plant diseases (HORSFALL 1956, HORSFALL and DIMOND 1951). HASSEBRAUK (1952 b) used sulfonamides as chemotherapeutic agents. Cereal rusts were greatly inhibited by these compounds. p-aminobenzoic acid or folic acid simultaneously supplied with sulfonamides overcame the inhibition, indicating that the chemotherapeutic substance interferes with synthesis of folic acid. The virus inhibiting action of sulfonamides was demonstrated by STODDARD (1944) in relation to the virus X disease of peach and later also by RHYSKOV (1957) concerning the multiplication of tobacco mosaic virus in *Nicotiana glutinosa.*

Outstanding successes have been obtained recently in the field of plant chemotherapy by the application of antibiotics. Gliotoxin which is regarded as the first antibiotic in the modern sense was discovered by phytopathologists and crystallized even before the production of penicillin as a pure substance (WEINDLING and EMERSON 1936). Today attention is focussed primarily on streptomycin which is easily translocable in the plant and only slightly phytotoxic. It penetrates the cells of higher organisms more slowly than those of the microorganisms and its selective effect primarily may be attributed to this property. Concerning the mechanism of action of streptomycin it was suggested by UMBREIT (1953) that the pyruvic acid-oxaloacetate reaction is inhibited in streptomycin treated cells.

Experiments conducted by MÜLLER et al. (1954) paved the way for the further elucidation of the mechanism of action of streptomycin which is characteristic for plant tissues. They were able to show that susceptible potato and tomato varieties treated with streptomycin aquired resistance against *Phytophthora* infection, although the fungus is not sensitive to streptomycin in vitro. Following up this line, a considerable increase in the activity of polyphenolase was observed recently by VÖRÖS, KIRÁLY and FARKAS (1957) in potato leaves and tubers treated with streptomycin. It is suggested that the streptomycin-induced resistance is based on this reaction, therefore, on the same biochemical phenomenon which is regarded (as out-

lined in a previous section) as the natural source of resistance in potato, i. e. on the high polyphenolase activity.

b. Chemotherapy of viruses. Inhibition of infection by plant viruses or that of their multiplication in the tissues is a very fascinating field of modern research reviewed recently by several authors (MATTHEWS and SMITH 1955). Only a few aspects of the recent trends should be mentioned here.

It has been observed that plant viruses are strongly inhibited by trypsine, pancreas-ribonuclease (LORING 1942) and other compounds. The mechanism of their action is not known yet.

WOODS has shown (1943) that the multiplication of tobacco mosaic and tobacco ringspot viruses may be inhibited by cyanide treatment, presumably indirectly, through the inhibition of the respiratory enzymes of the host plant. COMMONER and MERCER (1951, 1952) succeeded in inhibiting the multiplication of tobacco mosaic virus by thiouracil and this inhibition could be removed by uracil. In addition, MATTHEWS (1953) reported on the virus inhibiting effect of 8-azaguanine which could be removed by adenine and guanine. 8-azaguanine, similarly to thiouracil is incorporated into the nucleic acid component of the virus and these virus particles become "sterile". In addition to the purine and pyrimidine derivatives RHYSKOV (1951) reported on the virus inhibiting action of some amino acids, whereas other workers found amino acid analogues to be effective (SCHLEGEL and RAWLINS 1954).

It may be seen from this short survey that although results are scanty in some fields, chemotherapy offers a wide range of possibilities for the control of pathogens also in the field of plant pathology.

Zusammenfassung

Der vorliegende Überblick ist eine kurze Zusammenfassung der gegenwärtigen Entwicklung auf dem Gebiete der biochemischen Grundlagen der Phytopathologie und des Pflanzenschutzes. Behandelt werden die folgenden Probleme: die Bedeutung von „Metaboliten und Antimetaboliten" im pathologischen Prozeß (Toxine, Wuchsstoffe, Phenolkörper usw.), Energiehaushalt und Oxydationsmechanismen in kranken Pflanzen, die Beteiligung von verschiedenen Oxydationsmechanismen in den Abwehrreaktionen, Störungen des N-Stoffwechsels in der kranken Pflanze, Nucleinsäurestoffwechsel der kranken Pflanze mit besonderer Berücksichtigung der Viruskrankheiten, biochemische Prinzipien der präventiven Krankheitsbekämpfung und der Chemotherapie, Wirkungsmechanismen einiger Pflanzenschutzmittel sowie Beispiele für erfolgreiche Chemotherapie im Pflanzenschutz. Es wird ausdrücklich betont, daß die biochemische Richtung in der modernen Phytopathologie immer mehr eine führende Stellung einnimmt.

The authors wish to record their sincere thanks to prof. M. SHAW, Department of Biology, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada for his comments on the manuscript.

Literature cited

ABUMIYA, D., and T. KOBAYASHI, 1954: Paper presented at the Meeting of the Phytopath. Soc. Japan. Ref. M. SHIROYA and S. HATTORI, 1955: Physiol. Plant. **8**, 358.

AKAZAWA, T., 1955: Metabolic activation of white potato tissue infected with *Ceratostomella fimbriata*. J. Biochem. (Tokyo) **43**, 589—595.

ALLEN, P. J., 1942: Changes in the metabolism of wheat leaves induced by infection with powdery mildew. Amer. J. Bot. **29**, 425—435.

— —, 1954: Physiological aspects of fungus diseases of plants. Ann. Rev. Plant Physiol. **5**, 225—248.

ANDAL, R., and N. S. SUBBARAO, 1956: Amino acid changes in the healthy and "foot-rot" infected rice (*Oryza sativa* L.). J. Indian Bot. Soc. **35**, 414—416.

BARRETT, R. E., and J. H. MCLAUGHLIN, 1954: Electrophoretic and chromatographic analysis of protein extracts of wheat seedlings. J. Agr. Food Chem. **2**, 1026—1029.

BASLER, E., and B. COMMONER, 1956: The effect of tobacco mosaic virus biosynthesis on the nucleic acid content of tobacco leaf. Virology **2**, 13—28.

BAWDEN, F. C., 1956: Reversible, host-induced changes in a strain of tobacco mosaic virus. Nature **177**, 302—304.

— —, and N. W. PIRIE, 1952 a: Virus multiplication considered as a form of protein synthesis. 21—45 pp. In "The nature of virus multiplication" Ed. by. P. Fildes and W. E. van Heyningen, Oxford.

— —, and — —, 1952 b: Physiology of virus diseases. Ann. Rev. Plant Physiol. **3**, 171—188.

BODNÁR, J., 1915: Beiträge zur biochemischen Kenntnis der Rübenschwanzfäule der Zuckerrübe. Z. Pflkrankh. **25**, 321—325.

— —, und A. TERÉNYI, 1930: Biochemie der Brandkrankheiten der Getreidearten. II. Mitt. Biophysikalische und biochemische Untersuchungen über die Kupferadsorption der Weizensteinbrandsporen (*Tilletia tritici* [Bjerk.] Winter). Z. Physiol. Chem. **186**, 157—182.

— —, — —, 1932: Biochemie der Brandkrankheiten der Getreidearten. IV. Mitt. Wirkungsmechanismus der Quecksilbersalze auf die Weizensteinbrandsporen (*Tilletia tritici* [Bjerk.] Winter). Z. Physiol. Chem. **207**, 78—92.

COHEN, S. S., 1954: Comparative biochemistry and chemotherapy. In "Cellular Metabolism and Infections". Ed. by E. Racker, New York, 84—88.

COMMONER, B., and F. MERCER, 1951: Inhibition of the biosynthesis of tobacco mosaic virus by thiouracil. Nature **168**, 113.

— —, and — —, 1952: The effect of thiouracil on the rate of tobacco mosaic virus biosynthesis. Arch. Biochem. Biophys. **35**, 278—289.

COONS, G. H., and L. J. KLOTZ, 1925: The nitrogen constituents of celery plants in health and disease. J. Agr. Res. **31**, 287—300.

CURTIS, L. C., 1944: The influence of guttation fluid on pesticides. Phytopathology **34**, 196—205.

DALY, J. M., R. M. SAYRE, and J. H. PAZUR, 1957: The hexose monophosphate shunt as the major respiratory pathway during sporulation of rust of sufflower. Plant Physiol. **32**, 44—48.

DAVIS, D., and A. E. DIMOND, 1953: Inducing disease resistance with plant-growth regulators. Phytopathology **43**, 137—140.

De Ropp, R. S., 1951: The crown-gall problem. Bot. Rev. **17**, 629—670.

Deuel, H., 1954: Über Störungen des Spurenelementhaushaltes der Pflanzen durch Welketoxine. Phytopath. Z. **21**, 337—348.

Doby, G., 1911: Biochemische Untersuchungen über die Blattrollkrankheit der Kartoffel. II. Die Oxydasen der ruhenden und angetriebenen Knollen. Z. Pflkrankh. **21**, 321—336.

— —, 1912: Biochemische Untersuchungen über die Blattrollkrankheit der Kartoffel. IV. Einige Bemerkungen über die Physiologie kranker Knollen. Z. Pflkrankh. **22**, 401—403.

Farkas, G. L.: Proc. IVth Internat. Congr. of Crop Prot. (Hamburg). In press.

— —, and Z. Király, 1955: Studies on the respiration of wheat infected with stem rust and powdery mildew. Physiol. Plant. **8**, 877—887.

Fraenkel-Conrat, H., and R. C. Williams, 1955: Reconstitution of active tobacco mosaic virus from its inactive protein and nucleic acid components. Proc. Nat. Acad. Sci. **41**, 690—698.

Fuchs, W. H., 1956: Ein Beitrag zur Pathologischen Physiologie. Angew. Bot. **30**, 141—146.

— —, und E. Kotte, 1954: Zur Kenntnis der Resistenz von *Solanum tuberosum* gegen *Phytophthora infestans* de By. Naturwissenschaften **41**, 169—170.

Gäumann, E., 1957: Über Fusarinsäure als Welketoxin. Phytopath. Z. **29**, 1—44.

— —, St. Naef-Roth und H. Kern, 1955: Über die chelierende Wirkung einiger Welketoxine. III. Die Verschiebungen der Toxizität durch steigende Absättigung mit Eisenionen. Phytopath. Z. **24**, 373—406.

Garay, A. St., 1956: Role of ergothionine and catalase in infection by ergot fungus (*Claviceps purpurea* Tul.). Nature **177**, 91—92.

— —, und S. Kökényesy, 1956: Vergleichende Untersuchungen über die Keimung der Mutterkorn-Konidien saprophytischen und parasitischen Ursprungs. Experimente mit Antiwirkstoffen. Phytopath. Z. **25**, 109—110.

Garber, E. D., 1954: The role of nutrition in the host-parasite relationship. Proc. Nat. Acad. Sci. **40**, 1112—1118.

Gierer, A., und G. Schramm, 1956: Die Infektiosität der Nucleinsäure aus Tabakmosaikvirus. Z. Naturforsch. **11 b**, 138—142.

Gimesi, N., and B. Pozsár, 1954: The effect of Abutilon virus on the activities of some enzymes and the decrease of ribonucleic acid content of the attacked cells. (In Hungarian with English summary.) Ann. Biol. Univ. Hung. **2**, 90—92.

Goksoyr, J., 1955: The effect of some dithiocarbamyl compounds on the metabolism of fungi. Physiol. Plant. **8**, 719—835.

Gothoskar, S. S., R. P. Scheffer, M. A. Stahmann, and J. C. Walker, 1955: Further studies on the nature of *Fusarium*-resistance in tomato. Phytopathology **45**, 303—307.

Gottlieb, D., 1957: The effect of metabolites on antimicrobial agents. Phytopathology **47**, 59—67.

— —, and J. M. Garner, 1946: Rust and phosphorus distribution in wheat leaves. Phytopathology **36**, 557—564.

Gretchusnikov, A. I., and N. N. Jakovleva, 1950: Changes in peroxidase activity in wart-resistant and wart-susceptible potatoes upon infection by *Synchytrium endobioticum* Schilb. (Perc.). (Orig. in Russian). Dokl. Akad. Nauk. SSSR **73**, 207—208.

Grümmer, G., 1955: Die Beziehungen zwischen dem Eiweißstoffwechsel von Kulturpflanzen und ihrer Anfälligkeit gegen parasitische Pilze. Phytopath. Z. **24**, 1—42.

Hafiz, A., 1952: Basis of resistance in gram to *Mycosphaerella* blight. Phytopathology **42**, 422—424.

Hassebrauk, K., 1952 a: Untersuchungen über die Einwirkung von Sulfonamiden und Sulfonen auf Getreideroste. II. Weitere Untersuchungen über die rosthemmende Wirkung. Phytopath. Z. **18**, 452—460.

— —, 1952 b: Untersuchungen über die Einwirkung von Sulfonamiden und Sulfonen auf Getreideroste. III. Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus von Sulfonamiden und Sulfonen. Phytopath. Z. **19**, 56—78.

Heitefuss, R., 1957: Untersuchungen zur pathologischen Physiologie von *Peronospora parasitica* Gäum. auf *Brassica oleracea*. Diss. Univ. Göttingen.

Hochstein, P. E., C. E. Cox and H. D. Sisler, 1954: The biochemical action of N-trichloromethylthiotetrahydrophthalimide (Captan). Phytopathology **44**, 492.

Horsfall, J. G., 1956: Principles of Fungicidal Action. Waltham.

— —, and A. E. Dimond, 1951: Plant chemotherapy. Ann. Rev. Microbiol. **5**, 209—222.

Hotson, H. H., and V. M. Cutter, 1951: The isolation and culture of *Gymnosporangium juniperi-virginianae* Schw. upon artificial media. Proc. Nat. Acad. Sci. **37**, 400—403.

Johnson, G., and L. A. Schaal, 1952: Relation of chlorogenic acid to scab resistance in potatoes. Science **115**, 627—629.

— —, and — —, 1957: Chlorogenic acid and other orthodihydric phenols in scab-resistant Russet Burbank and scab-susceptible Triumph potato tubers of different maturities. Phytopathology **47**, 253—255.

Johnson, J., and H. F. Murwin, 1925: Experiments on the control of wildfire of tobacco. Wisc. Agr. Exp. Sta., Res. Bul. **62**, 34. p.

Josepovits, Gy., and G. Ubrizsy, 1955: Biochemical investigations on bunt resistant and susceptible wheat varieties. (In Hungarian) MTA Agrártud. Oszt. Közl., Budapest, **8**, 164—169.

Keitt, G. W., and D. M. Boone, 1954: Induction and inheritance of mutant characters in *Venturia inaequalis* in relation to its pathogenicity. Phytopathology **44**, 362—370.

Kern, H., und D. Kluepfel, 1956: Die Bildung von Fusarinsäure durch *Fusarium lycopersici* in vivo. Experientia **12**, 181—182.

Király, Z., and G. L. Farkas, 1953: Preliminary studies on the physiology of winter-hardening of barleys infected with loose smut (*Ustilago nuda* [Jens.] Rostr.). (Hungarian, with English and German summary.) Növénytermelés **2**, 130—133.

— —, und — —, 1955: Über die parasitogen induzierte Atmungssteigerung beim Weizen. Naturwissenschaften **42**, 213—214.

— —, und — —, 1956: Untersuchungen über den Mechanismus der Endoxydation des rostbefallenen Weizens. (Hungarian with German summary.) Agrokémia és Talajtan. **5**, 233—240.

— —, and — —, 1957 a: On the role of ascorbic oxidase in the parasitically increased respiration of wheat. Arch. Biochem. Biophys. **66**, 474—485.

— —, und — —, 1957 b: Infektionsbedingte Änderung der Glutaminsäuredecarboxylase-Aktivität beim rostbefallenen Weizen. Naturwissenschaften **44**, 353.

— —, and — —, 1957 c: Decrease in glycolic acid oxidase activity of wheat leaves infected with *Puccinia graminis* var. *tritici*. Phytopathology **47**, 277—278.

Kirkham, D. S., 1957: Studies on the significance of polyphenolic host metabolites in the nutrition of *Venturia inaequalis* and *Venturia pirina*. J. Gen. Microbiol. **17**, 120 bis 134.

Kovács, A., 1955: Über die Ursachen der unterschiedlichen Resistenz der Zuckerrübensorten gegen *Cercospora beticola* Sacc. Phytopath. Z. **24**, 283—298.

Krebs, H. A., 1954: Energy production in animal tissues and in microorganisms. In „Cellular Metabolism and Infections", Ed. by E. Racker, New York, 35—44.

Kuc, J., 1957: A biochemical study of the resistance of potato tuber tissue to attack by various fungi. Phytopathology **47**, 676—680.

Kuprevich, V. F., 1947: Physiology of diseased plants. (Russian.) Moscow.

Lakshminarayanan, K., 1955: Some biochemical aspects of vascular wilts. Proc. Indian Acad. Sci. **41**, 132—144.

Laloraya, M. M., 1955: Effect of yellow mosaic virus on the free amino acid and organic acid content of *Phaseolus vulgaris* L. leaves. A chromatographic study. Naturwissenschaften **42**, 489.

— —, R. V. Govindjee and T. Rajaro, 1956: Increased formation of asparagine in „carica curl" virus infected leaves. Experientia **12**, 58—59.

Lepik, E., 1939: Untersuchungen über den Biochemismus der Kartoffelfäulen. II. Über die Rolle der stickstoffhaltigen Bestandteile der Kartoffelknolle bei der *Phytophthora*-Fäule. Phytopath. Z. **12**, 292—311.

Le-Tourneau, D., 1955: Catalase activity of seedling wheat leaves infected with stem rust. Bot. Gaz. **117**, 153—156.

Loomis, W. F., and F. Lipmann, 1948: Reversible inhibition of the coupling between phosphorylation and oxidation. J. Biol. Chem. **173**, 807—808.

Loring, H. S., 1942: The reversible inactivation of tobacco mosaic virus by crystalline ribonuclease. J. Gen. Physiol. **25**, 497—505.

Martin, J. T., R. F. Batt and R. T. Burchill, 1957: Defence mechanism of plants against fungi Fungistatic properties of apple leaf wax. Nature **180**, 796—799.

— —, and E. Somers, 1957: Defence mechanism of plants against fungi. Solubilization of copper by leaves and water-soluble acids from leaf wax. Nature **180**, 796—799.

Matthews, R. E. F., 1953: Incorporation of 8-azaguanine into nucleic acid of tobacco mosaic virus. Nature **171**, 1065—1066.

— —, and J. D. Smith, 1955: The chemotherapy of viruses. Adv. Virus Res. **3**, 49—148.

McCallan, S. E. A., and F. Wilcoxon, 1936: The action of fungus spores on Bordeaux mixture. Contr. Boyce Thompson Inst. **8**, 151—165.

Menon, R., und L. Schachinger, 1957: Die Rolle des Phenols bei der Widerstandsfähigkeit von Tomatenpflanzen gegen Infektionen. Ber. Deut. Bot. Ges. **70**, 11—20.

Miller, L. P., S. E. A. McCallan and R. M. Weed, 1953: Quantitative studies on the role of hydrogen sulfide formation in the toxic action of sulfur to fungus spores. Contr. Boyce Thompson Inst. **17**, 151—171.

Moyse, A., 1950: Respiration et metabolism azote. Paris.

Müller, K. O., J. H. E. Mackay and J. N. Friend, 1954: Effect of streptomycin on the host-pathogen relationship of a fungal phytopathogen. Nature **174**, 878—879.

— —, and L. Behr, 1949: Mechanism of *Phytophthora* resistance of potato. Nature **163**, 498—499.

Nienstaedt, H., 1953: Tannin as a factor in the resistance of chestnut, *Castanea* spp., to the chestnut blight fungus *Endothia parasitica*. Phytopathology **43**, 32—38.

Nour-Eldin, F., 1955: The effect of organic acids on tobacco mosaic virus multiplication. Phytopathology **45**, 291.

PILET, P. E., 1953: Etude physiologique du parasitisme de l'*Uromyces pisi* (Pers.) de By., sur l'*Euphorbia cyparissias* L. Experientia **9**, 300—303.

POZSÁR, B., 1957: Chloroplast denucleination due to the effect of Abutilon virus. Acta Biol. Acad. Sci. Hung. **7**, 337—342.

— —, and Z. KIRÁLY, 1958: Effect of rust infection on oxidative phosphorylation of wheat leaves. Nature **182**, 1686—1687.

REINDEL, F., und W. BIENENFELD, 1956: Unterschiede in den freien Aminosäuren in Blattpreßsäften gesunder und blattrollkranker Kartoffelpflanzen. Z. Physiol. Chem. **305**, 123—131.

RHYSKOV, V. L., 1951: Effect of amino acids and related compounds on the multiplication of tobacco mosaic virus. (Russian.) Dokl. Akad. Nauk. SSSR **80**, 677.

— —, 1957: Methods of the metabolites and antimetabolites in the study of the multiplication of tobacco mosaic virus. (Russian.) Izv. Akad. Nauk. SSSR, Ser. Biol. **22**, 41—54.

— —, and N. L. MARCHENKO, 1954: Effect of some metabolites on the multiplication of tobacco mosaic virus. Dokl. Acad. Nauk. SSSR. **98**, 1033—1037.

RIKER, A. J., 1939: Physiological relations between host and parasite in crown gall. An example of basic biological research with plant materials. Amer. J. Bot. **26**, 159—162.

ROHRINGER, R., 1957: Untersuchungen zur Biochemie von Weizenkeimpflanzen nach Infektion mit *Puccinia graminis tritici* Erikss. und Henn., ph. R. 126 A. Phytopath. Z. **29**, 45—64.

RUBIN, B. A., and V. A. AKSENOVA, 1957: Participation of the polyphenolase system in the defence reactions of potato against *Phytophthora infestans*. (Russian with English summary.) Biokhimiya **22**, 202—209.

— —, E. V. ARZICHOWSKAJA, and T. A. PROSKURNIKOVA, 1947: Oxidative changes of phenols and their relation to the resistance of potatoes against *Phytophthora infestans*. (Russian with English summary.) Biokhimiya **12**, 141—152.

— —, and E. P. CHETVERIKOVA, 1955: On the role of oxidative processes in the resistance of cabbage to *Botrytis cinera*. (Russian.) Biokh. Plodov i Ovosc. **3**, 43—78.

— —, L. M. PEREVJAKINA, and N. P. VOLUBUEVA, 1952: Oxidized products of tannins and their role in the resistance of cotton to wilt disease. (Russian.) Vestn. Mosk. Univ. **12**, 63—75.

RUDLOFF, C. F., 1935: *Venturia inaequalis* (Cooke) Aderhold. I. Der Einfluß des Nährbodens auf den Pilz und die Erhaltung seiner Pathogenität. Gartenbauwissenschaft **9**, 80—82.

SAMBORSKI, D. J., and M. SHAW, 1957: The physiology of host-parasite relations. IV. The effect of maleic hydrazide and indoleacetic acid on the rust resistance of Khapli and Little Club wheats. Canad. J. Bot. **35**, 449—455.

SARDINA, J. R., and F. M. CORDON, 1949: Accion de algunos fármacos sobre las virosis de las plantas. Bol. Patol. Veget. y Entomol. Agricola, Madrid, **17**, 1—14.

SCHEFFER, R. P., and R. P. COLLINS, 1957: Pathological respiration in *Fusarium*-infected tomato plants. Phytopathology **47**, 533.

SCHLEGEL, D. E., and T. E. RAWLINS, 1954: A creening test of the effect of organic compounds on production of tobacco mosaic virus. J. Bact. **67**, 103—109.

SCIARINI, L. J., and F. F. NORD, 1943: On the mechanism of enzyme action, Part 22. Elementary sulfur as hydrogen acceptor in the dehydrogenations by living Fusaria. Arch. Biochem. **3**, 261—267.

SEMPIO, C., 1950: Metabolic resistance to plant diseases. Phytopathology **40**, 799—822.

Serrano, L. S., 1955: Possible induction de resistencia del tomate al *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary mediante auxonas. Acta Agronomica (Palmira, Colombia) **5**, 117—134.

Shaw, M., 1957: Lecture delivered on the IVth Internat. Congr. for Crop Prot. Hamburg. In press.

— —, and A. R. Hawkins, 1958: The physiology of host parasite relations. V. Preliminary examination of the level of free endogenous indoleacetic acid in rusted and mildewed cereal leaves and their ability to decarboxylate exogenously supplied radioactive indoleacetic acid. Canad. J. Bot. **36**, 1—16.

— —, and D. J. Samborski, 1956: The physiology of host parasite relations. I. The accumulation of radioactive substances at infections of facultative and obligate parasites including tobacco mosaic virus. Canad. J. Bot. **34**, 389—405.

— —, and — —, 1957: The physiology of host parasite relations. III. The pattern of respiration in rusted and mildewed cereal leaves. Canad. J. Bot. **35**, 389—407.

Siebs, E., 1955: Untersuchungen über die Schorfresistenz von Birnen. III. Stofflicher Hinweis auf die Grundlagen der Blattschorfresistenz. Phytopath. Z. **23**, 37—48.

Spencer, D. M., J. H. Topps, and R. L. Wain, 1957: An antifungal substance from the tissues of *Vicia faba*. Nature **179**, 651—652.

Stoddard, E. M., 1944: Immunization of peach trees to disease by chemotherapy. Phytopathology **34**, 1011—1012.

Suhorukov, K. T., 1952: The physiology of plant immunity. (Russian) Moscow.

Szent-Györgyi, A., 1956: Bioenergetics. Science **124**, 873—875.

— —, und K. Vietorisz, 1931: Bemerkungen über die Funktion und Bedeutung der Polyphenoloxydase der Kartoffeln. Biochem. Z. **233**, 236—239.

Tamari, K., and J. Kaji, 1954: Studies on the mechanism of the plant-growth inhibitory action of fusarinic acid, a toxin produced by *Gibberella fujikuroi* WR., which is the causative mould of the bakanae disease of rice plants. Bull. Fac. Agric. Niigata Univ. **6**, 1—25.

Tomiyama, K., N. Takase, R. Sakai, and M. Takakuwá, 1956: Physiological studies on the defence reaction of potato plant to the infection of *Phytophthora infestans*. I. Changes in the physiology of potato tuber induced by the infection of *Phytophthora infestans* and their varietal differences. Res. Bull. Hokkaido Nat. Agr. Exp. Sta. **71**, 32—50.

Umbreit, W. W., 1953: The action of streptomycin. VI. A new metabolic intermediate. J. Bact. **66**, 74—81.

Uritani, I., and T. Akazawa, 1955: Antibiotic effect on *Ceratostomella fimbriata* of ipomeamarone, an abnormal metabolite in black rot of sweet potato. Science **121**, 216—217.

— —, ——, and M. Uritani, 1954: Increase of respiratory rate in sweet potato tissue infected with black rot. Nature **174**, 1060.

Vager, R. M., 1955: Changes in the activity of respiratory enzymes in virus-infected plants. (Russian.) Zhur. Obsh. Biol. **16**, 298—305.

Valle, E., 1957: On anti-fungal factors in potato leaves. Acta Chem. Scand. **11**, 395—397.

Van Rysselberge, C., and R. Jeener, 1957: Plant virus synthesis and the abnormal protein constituents of infected leaves. Biochim. Biophys. Acta **23**, 18—23.

Van Sumere, C. F., C. Van Sumere-De Preter, and G. A. Ledingham, 1957: Cell-wall-splitting enzymes of *Puccinia graminis* var. *tritici*. Canad. J. Microbiol. **3**, 761—770.

— —, — —, — —, and L. C. Vining, 1957: Coumarins and phenolic acids in the uredospores of wheat stem rust. Canad. J. Microbiol. **3**, 847—862.

Virtanen, A. I., P. K. Hietala, and Ö. Wahlroos, 1957: Antimicrobial substances in cereals and fodder plants. Arch. Biochem. Biophys. **69**, 486—500.

Vörös, J., Z. Király, and G. L. Farkas, 1957: Role of polyphenolase in streptomycin-induced resistance to *Phytophthora* in potato. Science **126**, 1178.

Walker, J. C., 1923: Disease resistance to onion smudge. J. Agr. Res. **24**, 1019—1039.

Wang, T. Y., and B. Commoner, 1956: The formation of infectious nucleoprotein from tobacco mosaic virus protein and tobacco leaf DNA. Proc. Nat. Acad. Sci. **42**, 831—841.

Weindling, R., and O. H. Emerson, 1936: The isolation of a toxic substance from the culture filtrate of *Trichoderma*. Phytopathology **26**, 1068—1070.

Wolf, F. T., 1952: The production of indoleacetic acid by *Ustilago zeae* and its possible significance in tumour formation. Proc. Nat. Acad. Sci. **38**, 106—111.

— —, 1956: The production of indole acetic acid by the cedar apple rust fungus and its identification by paper chromatography. Phytopath. Z. **26**, 219—223.

Wood, R. K. S., 1955: Pectic enzymes secreted by pathogens and their role in plant infection. 263—293 pp. In "Mechanism of microbial pathogenicity". Ed. by J. W. Howie and A. J. O'Hea, Cambridge.

Woods, M. W., 1943: Effect of cyanide on synthesis of ring-spot and mosaic viruses in tobacco. Phytopathology **33**, 77—80.

Woolley, D. W., 1945: Observations on antimicrobial action of 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone, and its reversal by vitamine K. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. **60**, 225.

— —, 1946: Streptogenin activity of serylglycylglutamic acid. J. Biol. Chem. **166**, 783—794.

— —, R. B. Pringle, and A. C. Braun, 1952: Isolation of the phytopathogenic toxin of *Pseudomonas tabaci*, an antagonist of methionine. J. Biol. Chem. **197**, 409—417.

Aus dem Institut für Pflanzenkrankheiten
der Universität in Bonn
Direktor: Prof. Dr. H. Braun

Über die chemische Bekämpfung von *Phytophthora cactorum*, dem Erreger der Kragenfäule an Apfelbäumen

Von

F. Nienhaus

Mit 7 Abbildungen

A. Einleitung

Mehrjährige, intensive Untersuchungen über *Phytophthora cactorum* im Institut für Pflanzenkrankheiten der Universität in Bonn (Braun u. Kröber 1958) sowie Veröffentlichungen in Holland, Belgien und England (Ten Houten 1953, 1954, Soenen u. Busschot 1954, Smith 1953) ließen die wachsende wirtschaftliche Bedeutung der Krankheit für den Apfelanbau und die Notwendigkeit geeigneter Bekämpfungsmaßnahmen erkennen. Versuche, mit chemischen Mitteln die erkrankten Bäume zu heilen bzw. Bäume vor Erkrankung zu schützen, waren jedoch nur in wenigen Fällen erfolgreich, so daß nach neuen Wegen gesucht werden muß, um eine weitere Ausbreitung der Krankheit zu verhindern und vorhandene Herde zu beseitigen. Neben der Anwendung von Fungiziden haben Braun und Kröber (1958) auf die Notwendigkeit der Vernichtung aller faulen Früchte unter den Bäumen hingewiesen; weitere Maßnahmen hygienischer Art, die neben einer chemischen Bekämpfung dringend erforderlich sind, werden in Kürze an anderer Stelle vorgeschlagen. Hier soll allein auf Möglichkeiten der chemischen Bekämpfung eingegangen werden.

Therapeutisch wird in Anlehnung an amerikanische Arbeiten (Baines 1939) rechtzeitiges Ausschneiden oder Ausbrennen (Braun u. Kröber 1958) der Faulstellen bis einige Zentimeter ins gesunde Gewebe hinein empfohlen. In Holland soll sich eine Behandlung der entstandenen Wunden mit 0,2 % Captan und Verstreichen mit Wundverschlußmitteln bewährt haben (Roosje 1957). Da ein Befall unter günstigen Umständen in wenigen Wochen vielfach zum Verlust des Baumes führt, ist frühzeitiges Erkennen unentbehrlich. Eine Faulstelle begrenzter Ausdehnung ist nur durch Anschneiden der Rinde sicher festzustellen. Diese mindestens zweimal jährlich durchzufüh-

rende Kontrolle erfordert in größeren Plantagen viel Zeit. Auch werden dabei neue Wunden und damit günstige Eintrittspforten für den Pilz geschaffen. Schließlich führt diese Behandlung häufig nicht zu dem gewünschten Erfolg, weil der Pilz im gesunden Gewebe makroskopisch unsichtbar bleibt und nach eigenen Beobachtungen selbst bei weitgreifendem Entfernen der gesunden Randzone nicht sicher erfaßt wird. In einer Anlage wurden beispielsweise an mehreren James-Grieve- und Cox-Orange-Apfelbäumen bei Anschneiden der Rinde 20 bis 40 cm oberhalb der Faulstelle stecknadelkopfgroße Nekrosen beobachtet. Aus ihnen sowie aus der zwischen ihnen und der Faulstelle liegenden, gesund erscheinenden Rindenzone konnte *Phytophthora cactorum* isoliert werden (Abb. 1). Offenbar kann der Pilz unter bestimmten Bedingungen beträchtliche Strecken zurücklegen, ohne daß das Wirtsgewebe makroskopisch sichtbar reagiert. Ausschneiden oder Ausbrennen der Faulstellen muß deshalb häufig erfolglos bleiben.

Abb. 1. Nekrosen in der angeschnittenen Rinde von Apfelbäumen durch *Phytophthora cactorum*. Etwa 3 × vergrößert

Die chemische Bekämpfung der Kragenfäule wird sich in erster Linie auf prophylaktische Behandlung stützen. Kupferoxychlorid-Präparate können als Belag auf der Rinde Sporenkeimung oder Myzelwachstum und so die Infektion des Baumes verhindern, wenn sie lückenlos aufgetragen und nicht durch Niederschläge allzu schnell abgewaschen werden. In Holland werden zur Erhöhung der Haftfähigkeit zu einer 4%igen Cu-Oxychlorid-Suspension 4 % Weizenmehl als Zusatz empfohlen (ROOSJE 1957). Da nach BIEDERMANN und MÜLLER (1952) Aminosäuren und andere organische Stoffe starke Komplexbildner sind und dadurch Cu-Ionen als Fungizid unwirksam machen, könnte Weizenmehl zwar die Haftfähigkeit erhöhen, gleichzeitig aber auch die fungizide Wirksamkeit beeinträchtigen. BRAUN und KRÖBER (1958) halten wegen der geringen Regenbeständigkeit wiederholtes Spritzen mit hochkonzentrierten Lösungen für erforderlich, die nur dann befriedigend wirken, wenn sich während der Vegetationszeit (Temperatur am Boden über 17 bis 18°C) „sämtliche Risse und Wunden lückenlos mit einem Fungizidbelag verschließen lassen". Spritzen mit Kupfermitteln nach der Laubausbildung ist aber wegen der Cu-Empfindlichkeit der Blätter kaum möglich.

Nach den bisherigen Erfahrungen läßt sich zusammenfassend sagen, daß eine therapeutische Bekämpfung der Kragenfäule schwierig und oft erfolglos ist, während die prophylaktisch angewandten Mittel keinen dauerhaften fungiziden Schutz gewährleisten, vielmehr wiederholte Spritzungen während der Vegetationszeit notwendig machen, die sich wiederum wegen Schädigung der Bäume verbieten. Darum wurden verschiedene noch nicht im Handel befindliche Präparate auf Regenbeständigkeit und fungizide bzw. fungistatische Wirkung geprüft.

B. Prophylaxe

I. Regenbeständigkeit chemischer Mittel

Im Laboratoriumsversuch gewonnene Ergebnisse über die Regenbeständigkeit eines Präparates lassen sich auf Freilandverhältnisse nur übertragen, wenn das Mittel auf eine dem Freiland entsprechende Unterlage aufgetragen wird; die in den USA gebräuchliche Abwaschmethode auf Objektträgern (Blumer u. Kundert 1951) kann kein reales Bild von der Haftfähigkeit eines Mittels auf einem Apfelbaumstamm geben. Deshalb wurden in der Länge halbierte Stammstücke (Breite 7 cm, Länge 40 cm) 8jähriger Cox-Orange-Apfelbäume mit verhältnismäßig glatter Rinde und rohe Parkettbodenbretter (Eiche) mit der gleichen Oberflächengröße für diese Untersuchungen herangezogen. Die Regenbeständigkeit der Präparate auf Baumstücken war derjenigen auf Brettern gleich, so daß für weitere Untersuchungen letztere vornehmlich verwendet wurden. Die Baumstücke bzw. Bretter wurden mit jeweils 5 cm^3 des zu prüfenden Präparates eingestrichen und nach 24 bis 48 Stunden Antrocknungsdauer einem feinen Sprühstrahl von dest. Wasser ausgesetzt. Dieser wurde aus einer Flasche mit Preßluft bei konstantem Druck durch eine feine Düse in konstanter Entfernung von Brett oder Stammstück verstäubt. Das ablaufende Wasser wurde mit den abgelösten Mitteln aufgefangen. Die im aufgefangenen Wasser abgewaschenen Mittel wurden 30 Minuten lang bei 6000 U/Min. abzentrifugiert, in Wägeschälchen bei 100 °C getrocknet und ausgewogen. Die Löslichkeit des Präparates in Wasser, d. h. die durch Zentrifugieren nicht erfaßbare gelöste Mittelmenge, wurde in Vorversuchen bestimmt und zu dem Gewogenen zusammen mit der durch Trocknen bei 100 °C verursachten Gewichtsveränderung zugezogen. Bei jeder Besprühung wurden 100 cm^3 Wasser aufgefangen und weiter verarbeitet und zwischen den einzelnen Absprühungen zwei bis sechs Stunden zum erneuten Antrocknen der Mittel eingeschaltet.

In Tabelle 1 sind zwei Cu-Oxychlorid- (A und B), ein Quecksilber- (C) und ein Kupfer-Präparat (D) mit dem zur Bekämpfung der Kragenfäule gebräuchlichen Cu-Oxychlorid Cupravit (Ob 21) verglichen. 3 %ige Suspensionen der Cu-Oxychloride enthalten in den aufgetragenen 5 cm^3 150 mg Substanz, 5 cm^3 der Pasten C und D wurden in der Verdünnung 1 : 1 aufgestrichen. Nach Tabelle 1 werden durch die ersten 100 cm^3 aufgefangener Wassermengen bereits 44 % Ob 21, 24 % von A und 30 % von B abgewaschen, während die abgelösten Mittelmengen von A in Nekton, C und D

nicht auszuwiegen waren. In den folgenden Absprühungen ging die Mittelmenge im Ablaufwasser auf 9, 3 und 2 % bei Ob 21, auf 5, 2 und 2 % bei A in Wasser und auf 6, 3 und 3 % bei B zurück, sie war bei A in Nekton, C und D weiterhin nicht zu erfassen. In der fünften Absprühung wurde wegen noch geringerer Mittelmengen auf weitere Auswägungen verzichtet. Nach einer Abwaschung von insgesamt 58 % bei Ob 21, 33 % bei A in Wasser und 42 % bei B verbleiben also auch bei Cu-Oxychloriden noch verhältnismäßig große Fungizidmengen auf dem Stamm zurück.

Tabelle 1

Regenbeständigkeit verschiedener chemischer Präparate, gemessen in viermaligen Absprühungen (I bis IV) mit je 100 ccm Wasser im Verlauf von 12 bis 16 Stunden

Präparat	Absprühungen			
	I	II	III	IV
Ob 21, 3 % = 150 mg + L[1]) 18 % + T[2]) 2 %				
Gesamt	65,6 mg[3])	13,1	4,7	2,2
% von 150 mg	44	9	3	2
A in Wasser, 3 % = 150 mg + L 10 % + T 1 %				
Gesamt	35,7	8,1	3,6	3,6
% von 150 mg	24	5	2	2
A in Nekton, 3 % = 150 mg	etwa 0[4])	etwa 0	etwa 0	etwa 0
B 3 % = 150 mg + L 36 % + T 3 %				
Gesamt	45,0	8,9	3,9	3,7
% von 150 mg	30	6	3	3
C 1 : 1 verd.	etwa 0	etwa 0	etwa 0	etwa 0
D 1 : 1 verd.	etwa 0	etwa 0	etwa 0	etwa 0

[1]) L = Löslichkeit, ermittelt von 30 mg in 100 ccm Wasser.
[2]) T = Gewichtsveränderung durch Trocknen bei 100 °C.
[3]) Abgewaschene Mittelmengen in mg, Mittelwerte aus sechs bis zehn Wiederholungen.
[4]) Abgelöste und gelöste Mengen nicht zu ermitteln.

Zur Beurteilung der an einem Apfelbaumstamm bei Regen ablaufenden Wassermenge wurde an einem 8jährigen Stamm der Sorte Frh. v. Berlepsch (Spindelbaum, Höhe etwa 2 m, Stammdurchmesser 8 cm) mit zwei Blechrinnen am unteren Stammstück das auf jeder Stammhälfte ablaufende Wasser aufgefangen und gemessen. Auf der ein wenig geneigten Stammseite (A) lief bedeutend mehr Wasser ab als auf der Gegenseite (B) (vgl. Tab. 2). Da sich die Wassermenge je nach Belaubung, Alter, Wuchsform usw. erheblich verändert (belaubter und entblätterter Baum in Tab. 2), können die von einem Baum ermittelten Werte nur einen groben Anhalt für die Verhältnisse im Freiland wiedergeben. Legen wir sie einmal für ein Monatsmittel von 50 mm Niederschlag zugrunde, so sind es etwa 8 Liter Wasser auf der stärker be-

netzten und knapp 1 Liter auf der trockneren Stammseite eines belaubten Baumes, mit denen nach den Laboratoriumsversuchen erhebliche Mengen von Cu-Oxychloriden abgewaschen werden.

Tabelle 2

An einem Apfelbaum ablaufende Wassermenge im Vergleich zum Niederschlag

Datum	Niederschlagsmenge in mm	aufgefangene Wassermenge in cm³ und %			
		A		B	
A. Belaubter Baum (Blattfläche 15 m²)					
I. 22. 9. bis 24. 9.	19,3	3100	(87%)	480	(13%)
II. 24. 9. bis 26. 9.	4,6	620	(90%)	70	(10%)
III. 1. 10. bis 3. 10.	3,9	820	(94%)	53	(6%)
I. bis III bezogen auf	1,0	167	(90%)	18	(10%)
B. Entblätterter Baum					
I. 13. 10. bis 15. 10.	3,6	370	(98%)	6	(2%)
II. 15. 10. bis 17. 10.	17,8	1680	(86%)	270	(14%)
I. bis II. bezogen auf	1,0	99	(92%)	9	(8%)

Große Regenbeständigkeit qualifiziert aber ein Mittel nicht schon für eine erfolgreiche Kragenfäulebekämpfung. In einigen Mittelprüfungen fand ich bei guter Haftfähigkeit die fungizide Wirkung gering. Es muß noch genügend fungistatisch oder fungizid wirksame Substanz abgelöst werden, damit Sporenkeimung bzw. Myzelwachstum unmöglich wird. Um die zur Unterdrückung der Sporenkeimung erforderlichen Mengen festzustellen, wurden Sporenkeimteste mit *Phytophthora cactorum* und *Alternaria tenuis* durchgeführt und schließlich die fungistatische Wirkung des bei den Absprühungen ablaufenden Wassers und der auf Holz und Rinde verbleibenden restlichen Fungizide geprüft.

II. Sporenkeimtest

Sporenkeimversuche mit *Phytophthora cactorum* sind neuerdings von Braun und Kröber (1958) begonnen worden. Auch die Dauer der Schwimmbewegung und die Keimschlauchlänge der Zoosporen wurden gemessen. Die Autoren konnten wegen geringer Keimfähigkeit der Sporen und ihrer unterschiedlichen Reaktion auf Umwelteinflüsse die Zoosporenkeimung nur grob quantitativ auswerten.

In Anlehnung an diese Arbeiten wurden die bei den vorliegenden Untersuchungen herangezogenen Mittel im Sporenkeimtest bei 24- bis 48stündiger Einwirkung der Fungizide geprüft. Mit der Stempeleinrichtung nach Zobrist (Blumer und Kundert 1951) wurden in Chromschwefelsäure und im fließenden Wasser 24 Stunden lang behandelte und in dest. Wasser mehrere Male abgespülte Objektträger mit vier Paraffinringen versehen. Die verschiedenen Mittelkonzentrationen wurden in gleich großen Tropfen nach der Methode von Biedermann und Müller (1952) in zwölf Wiederholungen innerhalb der Paraffinringe aufgetragen und nach Antrocknen durch ebenso große Tropfen einer Sporensuspension in

dest. sterilem Regenwasser von *Phytophthora cactorum* oder *Alternaria tenuis* ersetzt und in feuchten Kammern 24 bis 48 Stunden bei 20 bis 22 °C aufbewahrt.

Die Beschaffung von geeignetem Sporenmaterial bei *Phytophthora cactorum* ist ungleich schwieriger als bei *Alternaria tenuis*. *Alternaria* bildet auf 5 %igem Möhrensaft-Agar leicht Konidien (BLUMER u. KUNDERT 1951), während *Phytophthora cactorum* nur in wenigen Medien bestimmter Qualität und Konzentration Sporangien entwickelt (BRAUN u. KRÖBER 1958). Nach Beobachtungen der zuletzt genannten Autoren ist Bohnenmehldekokt (3 %, 1 : 9 mit dest. Wasser verdünnnt) als flüssiger Nährboden geeignet. Schon geringe Konzentrationserhöhungen veranlassen den Pilz zur Bildung von Oogonien und unterdrücken die Sporangienentwicklung. Wenn nach 5 bis 7 Tagen keine Sporangien beobachtet wurden, konnte ein Ersatz des Nährmediums durch dest. steriles Regenwasser oder bidest. Wasser zum Ziele führen. Nach Erfahrungen von BRAUN und KRÖBER werden Zoosporen nur aus Sporangien entlassen, die auf undefinierbaren Nährböden (z. B. Bohnenmehldekokt) mit niedrigen osmotischen Werten gebildet wurden. In dest. Wasser, das die Zoosporenentleerung besonders begünstigt, ist die Zahl der sich auflösenden und damit für einen Keimtest unbrauchbaren Zoosporen sehr groß (nach BRAUN und KRÖBER 30 bis 90 %). Als Keimmedium verwandte ich deshalb stets stark verdünntes Bohnenmehldekokt, in dem sich die Sporangien gebildet hatten. Eine weitere Schwierigkeit für den *Phytophthora cactorum*-Keimtest ist das schlechte Ablösen der Sporangien von ihren Trägern. Zehn Minuten kräftigen Schüttelns lösten je nach Pilzherkunft nur 20 bis 40 % Sporangien ab und wirkten sich auch noch schädigend auf die Entleerung der Sporangien aus. Da die Zahl leerer Sporangienhüllen keinen Anhalt für die Wirkung eines Fungizids gibt — vielfach wird durch Veränderung des osmotischen Wertes und andere Ursachen der Sporangieninhalt ohne Bildung von Zoo-

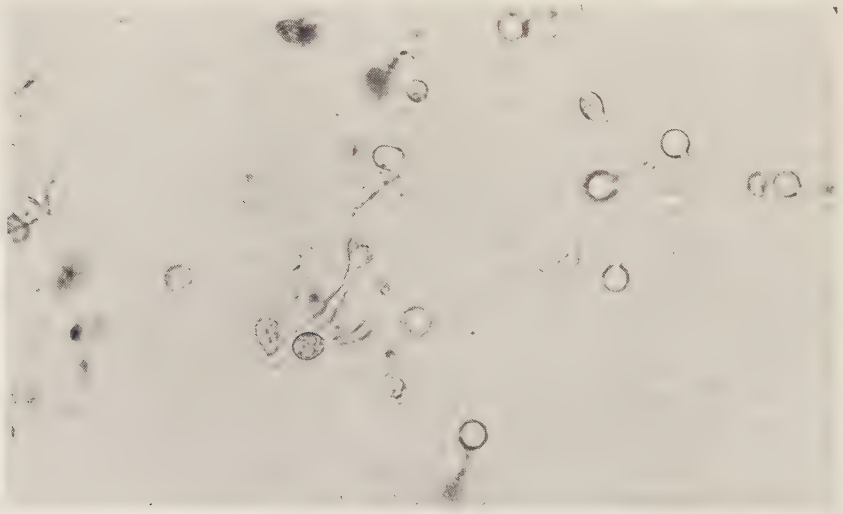


Abb. 2. Keimende Zoosporen von *Phytophthora cactorum* (etwa 540 ×)

sporen entleert —, zählte ich keimende und nicht keimende Zoosporen (Abb. 2) und in einigen Fällen bei direkter Keimung die keimenden Sporangien (Abb. 3). Nach Ausbildung der Sporangien mußten die Kulturen ständig beobachtet werden, um zur Zeit optimalen Zoosporenschlüpfens das Myzel durch Watte abzufiltrieren und die Suspension (evtl. verdünnt) auf die angetrockneten Mittel aufzutragen.

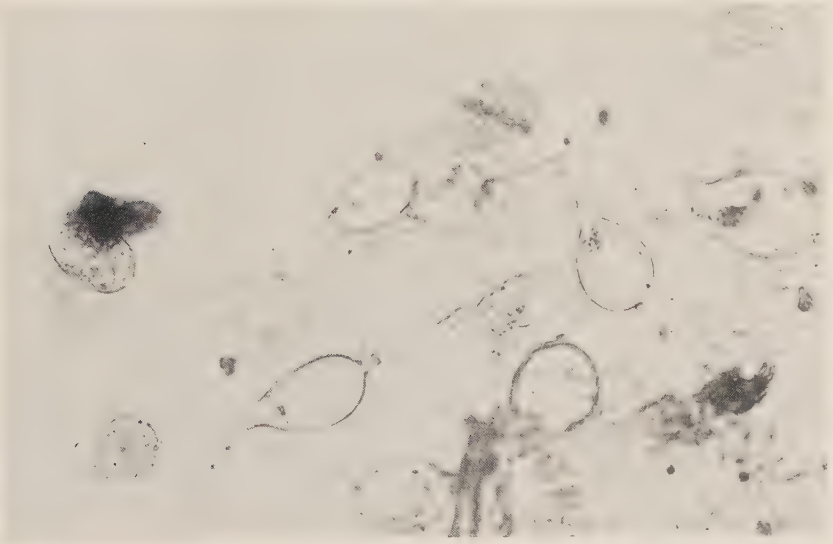


Abb. 3. Direkt keimende Zoosporangien von *Phytophthora cactorum* (360 ×)

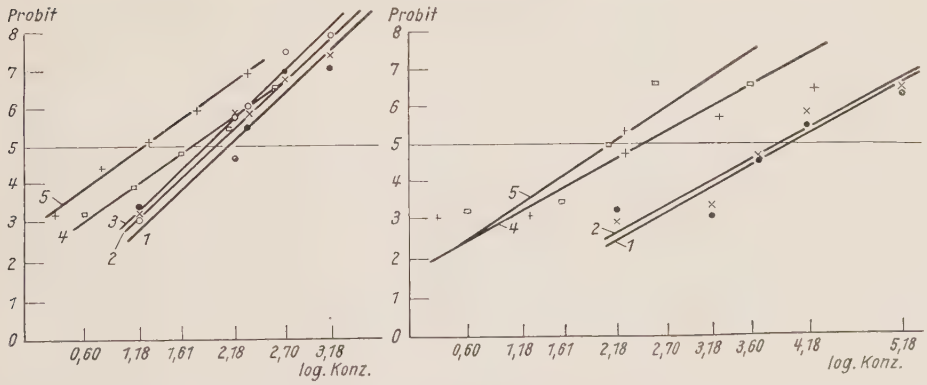


Abb. 4 (links). Zoosporenkeimung von *Phytophthora cactorum* in Fungiziden unterschiedlicher Konzentration. Probit = Transformation der Prozente nicht gekeimter Sporen nach FINNEY.

Abb. 5 (rechts). Konidienkeimung von *Alternaria tenuis* in Fungiziden unterschiedlicher Konzentration.

1 • = Ob 21, 2 × = Cu-Oxychlorid A, 3 ○ = Cu-Oxychlorid B, 4 □ = Hg (C), 5 + = Cu + organ. (D)

Tabelle 3

Abhängigkeit der Sporenkeimung bei *Phytophthora cactorum* und *Alternaria tenuis* von Fungiziden unterschiedlicher Konzentration

Fungizid	*Phytophthora*				*Alternaria*			
	Konzentration	log. Konz.	ungek. Sp. %	ungek. Sp. Probit	Konz.	log. Konz.	ungek. Sp. %	ungek. Sp. Probit
Cupravit (Ob 21)	15 mg Cu/100 l	1,18	5	3,36				
	150 mg Cu/100 l	2,18	37	4,67	150 mg	2,18	4	3,25
	500 mg Cu/100 l	2,70	97	6,88				
	1,5 g Cu 100 l	3,18	98	7,05	1,5 g	3,18	3	3,12
	15 g Cu/100 l	4,18	100	—	15 g	4 18	68	5,47
	150 g Cu/100 l	5,18	100	—	150 g	5,18	90	6,28
	1500 g Cu/100 l	6,18	100	—	1500 g	6,18	100	—
	Wendepunkt Sp	2,31		5,49		3,68		4,53
LD 50	**126 mg Cu/100 l**	2,10	50	5,00	**10,5 g Cu**	4,02	50	5,00
Cu-Oxy-chlorid: A	15 mg Cu/100 l	1,18	4	3,25				
	150 mg Cu/100 l	2,18	81	5,88	150 mg	2,18	2	2,95
	500 mg Cu/100 l	2,70	96	6,75				
	1,5 g Cu 100 l	3,18	99	7,33	1,5 g	3,18	5	3,36
	15 g Cu/100 l	4,18	100	—	15 g	4,18	79	5,81
	150 g Cu/100 l	5,18	100	—	150 g	5,18	92	6,41
	1500 g Cu/100 l	6,18	100	—	1500 g	6,18	100	—
	Wendepunkt Sp	2,31		5,80		3,68		4,63
LD 50	**91 mg Cu/100 l**	1,96	50	5,00	**8,5 g Cu**	3,93	50	5,00
B	15 mg Cu/100 l	1,18	3	3,12				
	150 mg Cu/100 l	2,18	79	5,81				
	500 mg Cu/100 l	2,70	99,3	7,46				
	1,5 g Cu/100 l	3,18	99,8	7,88				
	15 g Cu/100 l	4,18	100	—				
	150 g Cu/100 l	5,18	100	—				
	1500 g Cu/100 l	6,18	100	—				
	Wendepunkt Sp	2,31		6,07				
LD 50	**74 mg Cu/100 l**	1,87	50	5,00				
C Hg:	4 mg Hg/100 l	0,60	4	3,25	4 mg	0,60	4	3,25
	13 mg Hg 100 l	1,11	15	3,96				
					40 mg	1,60	6	3,45
	133 mg Hg/100 l	2,12	67	5,44				
	400 mg Hg/100 l	2,60	94	6,55	400 mg	2,60	93	6,48
	4 g Hg/100 l	3,60	100	—	4 g	3,60	93	6,48
	40 g Hg/100 l	4,60	100	—	40 g	4,60	100	—
	Wendepunkt Sp	1,61		4,80		2,10		4,92
LD 50	**53 mg Hg/100 l**	1,72	50	5,00	**138 mg Hg**	2,14	50	5,00
D Cu + organ.:	2 mg Cu/100 l	0,30	4	3,25	2 mg Cu	0,30	3	3,12
	6 mg Cu/100 l	0,78	21	4,19				
					18 mg Cu	1,26	3	3,12
	60 mg Cu/100 l	1,78	83	5,95				
	180 mg Cu/100 l	2,26	97	6,88	180 mg Cu	2,26	61	5,28
	1,8 g Cu/100 l	3,26	100	—	1,8 g Cu	3,26	75	5,67
	18 g Cu/100 l	4,26	100	—	18 g Cu	4,26	92	6,41
	Wendepunkt Sp	1,28		5,07		2,27		4,72
LD 50	**16 mg Cu/100 l**	1,21	50	5,00	**317 mg Cu**	2,50	50	5,00
Kontrolle:			3				2	

In Tabelle 3 sind die Prozente nicht gekeimter Zoosporen von *Phytophthora cactorum* und nicht gekeimter Konidien von *Alternaria tenuis* unter Einfluß verschiedener chemischer Mittel und die nach graphischer Methode Blumer u. Kundert 1951) ermittelten LD-50-Werte aufgeführt (vgl. Abb. 4 für *Ph. cactorum* und Abb. 5 für *Aternaria tenuis*). In Abbildungen 4 und 5 wurden auf der Abszisse die Konzentrationen logarithmisch, auf der Ordinate die Probitwerte (Transformation der Prozente nicht gekeimter Sporen nach Finney 1947) aufgetragen. Die Werte wurden in 12 Wiederholungen durch Auszählen von 600 bis 1000 Sporen je Mittel und Konzentration ermittelt. Der geringe Prozentsatz nicht gekeimter Zoosporen in der Kontrolle (4 %) unterstreicht die Möglichkeit eines exakten Sporenkeimtestes mit *Phytophthora cactorum*. Nach den LD-50-Werten ist *Phytophthora cactorum* viel Cu-empfindlicher als *Alternaria;* somit können die bei *Alternaria* gewonnenen Ergebnisse nicht auf *Ph. cactorum* übertragen werden. Die Quecksilberempfindlichkeit beider Pilze ist dagegen etwa gleich groß.

Die Konzentrationen zur völligen Verhinderung der Sporenkeimung bei *Phytophthora cactorum* liegen mit etwa 0,02 % Cu und 0,004 % Hg (Tab. 3) so niedrig, daß sehr geringe Mengen eines auf den Stamm aufgetragenen Mittels ausreichen müßten, eine Infektion des Baumes zu verhindern. Um so überraschender ist es, daß trotz wiederholter Spritzungen mit drei- und höherprozentigen Cu-Oxychloriden Infektionen durch den Pilz im Freiland beobachtet werden. In einer Plantage im Kreis Kempen (Ndrh.) wurden z. B. in dreiwöchigem Abstande von März bis Juli Stämme von Cox-Orange-Apfelbäumen mit einem Cu-Oxychlorid (3 %) intensiv gespritzt, trotzdem erkrankten bis August 4 % (Kontrolle 12 %). Da aus arbeitstechnischen und finanziellen Gründen in der Praxis nur mit 2 bis 3 Spritzungen während der Vegetationsperiode gerechnet werden kann, wird sich die Zahl der Erkrankungen noch wesentlich erhöhen (Landkreis Bonn 7 bis 10 %, Kontrolle 15 %).

Tabelle 4

Sporenkeimung bei *Phytophthora cactorum*

im fungizidhaltigen Ablaufwasser und auf vom Brett nicht abgelöstem Fungizidbelag im Labor-Sprühversuch

Absprühung (je 100 ccm Ablaufwasser)	Auf Bretter aufgetragene Fungizide				
	Cupravit (Ob 21)	Cu-Oxychlorid A in H_2O	in Nekton	C	D
I.	100[1])	100	100	100	100
II.	100	100	83	100	100
III.	100	100		100	100
IV.	96	100		100	100
V.	87	81		100	100
vom Brett nicht abgelöster Fungizidbelag nach V.	100	100		100	100

[1]) % nicht gekeimter Zoosporen.

Nach der ermittelten Regenbeständigkeit werden anfänglich zwar 33 bis 58 % der Oxychloride, dann aber nur noch geringe Mittelmengen abgewaschen. Da also reichlich Cu-Mengen auf der Rinde zurückbleiben, fragt sich, ob diese schwer ablösbaren Präparate soviel fungiziden Wirkstoff in Lösung geben können, daß sowohl im ablaufenden Wasser als auch auf dem am Stamm haftenden Fungizid eine Sporenkeimung verhindert wird.

Die fungistatische Wirkung des Ablaufwassers wurde im Laboratorium mit dem Sporenkeimtest geprüft, indem wie bei den Regenbeständigkeitsversuchen die im aufgefangenen Wasser suspendierten Mittelmengen auf Objektträger aufgetragen und nach Antrocknen mit einer Zoosporensuspension von *Phytophthora cactorum* versehen wurden. Im Wasser der fünften Absprühung (je 100 ccm Wasser) keimten bei Ob 21 bereits 13 %, bei A in

Tabelle 5

Vergleich von ablösbaren und fungistatisch wirksamen Mittelmengen im Ablaufwasser

(aus Tab. 1, 4, 3)

Absprühung	Ablaufwasser		Fungizidkonzentration im Sporenkeimtest	
	Fungizidmenge (mg/100 ccm)	Sporenkeimung (% nicht gekeimt)	Konzentration	Sporenkeimung (% nicht gekeimt)
I. Ob 21	65,6 = 0,03 % Cu	100	0,02 % Cu	100
II.	13,1 = 0,007 % Cu	100		
III.	4,7 = 0,002 % Cu	100	0,002 % Cu	98
IV.	2,2 = 0,001 % Cu	96		
V.	etwa 0[1])	87	0,0005 % Cu	97
I. A in H_2O	35,7 = 0,02 % Cu	100	0,02 % Cu	100
II.	8,1 = 0,004 % Cu	100		
III.	3,6 = 0,002 % Cu	100	0,002 % Cu	99
IV.	3,6 = 0,002 % Cu	100		
V.	etwa 0	81	0,0005 % Cu	96
I. A in Nekton..	etwa 0	100		
II.	etwa 0	83		
I. B	45,0 = 0,02 % Cu		0,02 % Cu	100
II.	8,9 = 0,005 % Cu			
III.	3,9 = 0,002 % Cu		0,002 % Cu	99,8
IV.	3,7 = 0,002 % Cu			
V.	etwa 0		0,0005 % Cu	99,3
I. C	etwa 0 Hg	100	0,04 % Hg	100
II.	etwa 0 Hg	100	0,004 % Hg	100
V.	etwa 0 Hg	100	0,0004 % Hg	94
I. D	etwa 0 Cu	100	0,02 % Cu	100
II.	etwa 0 Cu	100	0,002 % Cu	100
V.	etwa 0 Cu	100	0,0002 % Cu	97

[1]) Fungizidmengen nicht auszuwiegen.

Wasser 19 %, bei A in Nekton, ausgezeichnet durch hohe Regenbeständigkeit, schon in der zweiten Absprühung 17 % Zoosporen, während C und D im Ablaufwasser jegliche Keimung unterdrückten (Tab. 4). Die fungistatische Wirkung der auf den Brettern nach der fünften Absprühung zurückgebliebenen Mittel wurde geprüft, indem Sporensuspensionen in Paraffinringe auf dem Fungizidbelag auf Holz eingefüllt wurden. Bei allen geprüften Mitteln unterblieb auf diesem Restbelag die Sporenkeimung (Tab. 4).

In der folgenden Zusammenstellung (Tab. 5) sind die im Regenbeständigkeitsversuch (Tab. 1) ermittelten Fungizidmengen in den ersten fünf Absprühungen der Sporenkeimung im Ablaufwasser (Tab. 4) und in entsprechenden Cu- bzw. Hg-Konzentrationen aus Tabelle 3 gegenübergestellt. Die Sporenkeimung von *Phytophthora* beginnt bei etwa 0,002 % Cu (vgl. Ob 21, A in Wasser und B), dies entspricht der Cu-Konzentration im Ablaufwasser der 3. und 4. Absprühung (Keimung in der 4. und 5. Absprühung). Der großen Haftfähigkeit des Oxychlorids A in Nekton entspricht eine schlechte fungizide Wirkung (Keimung bereits in der 2. Absprühung), während C und D trotz großer Regenbeständigkeit die für eine Keimungsunterdrückung erforderliche Hg- bzw. Cu-Menge ins ablaufende Wasser abgeben. Erhebliche Cu-Oxychloridmengen auf dem Apfelstamm können demnach im Ablaufwasser nach wenigen Niederschlägen — wie im folgenden Abschnitt durch Freilandversuche bestätigt wird — Sporenkeimungen nicht vollständig unterdrücken. Erhöhung ihrer Haftfähigkeit ist offenbar mit Verringerung der fungistatischen Wirkung verbunden. Die beiden Pasten C und D dagegen waren trotz geringer Ablösbarkeit im Ablaufwasser fungistatisch wirksam.

III. Wirkung von Fungiziden in Apfelbaumplantagen

Im Wasser, das im Freiland an zwei Wochen vorher mit 3 % Cu-Oxychloriden angestrichenen Bäumen aufgefangen wurde, keimten bei Ob 21 80 %, bei A in Wasser 82 %, im Ablaufwasser beim Hg-Mittel C und Cu-Mittel D nach 9 Wochen 0 % Zoosporen.

Ein Sporenkeimtest auf den im Freiland am Stamm verbliebenen Fungiziden wurde nach folgender Methode durchgeführt: 6 cm^2 große Rindenstücke wurden aus 8jährigen Stämmen, die mit 3 %igen Cu-Oxychloriden bzw. 1 : 1 verdünnten Pasten von C und D behandelt waren, und aus einem unbehandelten Stamm ausgeschnitten, mit einem Rasiermesser ohne Verletzung der Rinde abgeschabt und in je 2 cm^3 Wasser suspendiert, nach 3 bis 4 Stunden auf Objektträger in Paraffinringe aufgetragen und nach Antrocknen mit Zoosporensuspension versehen. Dieser auf der Rinde zurückgebliebene Cu-Oxychloridrest war nach vier Wochen noch 100 %ig keimungshemmend, nach 9 Wochen keimten bei Ob 21 18 %, bei A 2 % (Kontrolle = Abschabung von unbehandeltem Baum 83 %); C und D hemmten die Keimung 100 %ig (Tab. 6).

Da *Phytophthora cactorum* nach Braun und Kröber (1958) in die Rinde nur durch Wunden und Risse einzudringen vermag, ist ein Schutz vor Infektion mit Fungiziden nur dann gewährleistet, wenn Sporen bzw. Myzel

Tabelle 6

Fungistatische Wirkung von Fungiziden am Apfelstamm im Freiland auf *Phytophthora cactorum*, zwei bis neun Wochen nach Behandlung

	Fungizide		C	D	Kontrolle
	Ob 21	A in Wasser			
1. Fungistatische Wirkung des Ablaufwassers					
nach 2 Wochen	20[1])	18	100	100	10
nach 9 Wochen			100	100	13
2. Am Stamm zurückgebliebene Fungizide					
nach 4 Wochen	100	100	100	100	
nach 9 Wochen	72	98	100	100	17

[1]) % ungekeimter Zoosporen.

durch die am Stamm ablaufenden Wassermengen in fungizid nicht abgedeckten Wunden oder Lücken an der Keimung bzw. am Wachstum gehindert werden. Die geprüften Cu-Oxychloride sind nach den ersten Niederschlägen demnach nur an solchen Stellen fungistatisch wirksam, wo sie in ausreichender Menge auf der Rinde haften; in nachträglich im Fungizidbelag entstandenen Rissen oder in Rindenwunden können sie die Sporenkeimung nicht verhindern.

In zwei weiteren Anlagen im Landkreis Bonn wurden an je 60 Cox-Orange-Apfelbäumen im März bis Mai 1958 verschiedene Fungizide von fünf Firmen prophylaktisch gegen *Phytophthora cactorum* geprüft (Tab. 7).

Die Parzellen waren in Anlage A nach dem lateinischen Quadrat mit drei Wiederholungen aufgeteilt. Nach Tabelle 7 sind die Mittel C und D vermutlich in ihrer Wirkung befriedigend. Schädigungen der Rinde durch den dichten Mittelbelag wurden nicht beobachtet. Ihre große Regenbeständigkeit, die ausreichende fungistatische Wirkung des am Baume ablaufenden Wassers und ihr erster Einsatz in Apfelbaumplantagen versprechen einen guten Schutz der Rinde vor Infektionen durch *Phytophthora cactorum*, wenn auch die geringe Zahl behandelter Bäume und vor allem die einjährige Versuchsdurchführung vorerst kein abschließendes Urteil erlauben. Sie können deshalb der Praxis nur versuchsweise als Prophylaktikum empfohlen werden. C = Phytocactan wurde von der Chemischen Fabrik Fahlberg-List, Wolfenbüttel, D = Pomophylan von Dr. H. G. Moldtmann, Chemisches Laboratorium Stade (Elbe), entwickelt. Beide Präparate werden von Fahlberg-List als Pasten in Büchsen hergestellt. Sie lassen sich ohne Schwierigkeit mit Wasser 1 : 1 verdünnen und sollen in dieser Form im Frühjahr auf den Stamm von der untersten Astgabel bis unterhalb des freigelegten Veredlungsknotens mit Pinsel lückenlos aufgetragen werden. Dabei ist darauf zu achten, daß besonders der Veredlungswulst sorgfältig mit Fungizid abgedeckt wird.

Pomophylan hat sich als Wundverschlußmittel bewährt, Phytocactan wurde in dieser Hinsicht noch nicht geprüft. Bei alten Bäumen mit borkiger Rinde ist eine Winterspritzung mit Karbolineum zur Glättung der Rinde zu empfehlen, die sich glatt besser mit Fungiziden einstreichen läßt. Abschaben der Rinde führt leicht zu schweren Verletzungen, die für *Phytophthora*-Infektion besonders geeignet sind. Die jährliche Einmaligkeit der Behandlung im zeitigen Frühjahr, die höchstens nach Bodenbearbeitung durch Überstreichen entstandener Wunden zu ergänzen ist, wiegt den Nachteil des Streichens gegenüber mehrmaligen Spritzungen auf. Spritzen in dreiwöchigem Abstand ist in der Praxis darüber hinaus nicht durchzuführen, sie brachten nach den hier gemachten Beobachtungen keinen ausreichenden Erfolg. Infizierte Bäume sind durch keines der beiden Mittel zu heilen, sie sind nur vorbeugend wirksam. Bäume auf anfälligen Unterlagen lassen sich nur in Teilen über dem Boden vor Infektionen schützen, eine Erkrankung der Wurzel kann mit chemischen Mitteln nicht verhindert werden.

Tabelle 7

Prophylaktische Wirkung verschiedener Fungizide gegenüber *Phytophthora cactorum* in Apfelbaumplantagen im Landkreis Bonn. Spritztermin März bis Mai 1958, Auswertung August 1958

Fungizid	Anlage A	Anlage B	
	Neuerkrankungen von 60 Bäumen in %	Neuerkrankungen von 90 Bäumen in %	
Cu-Oxychlorid A (3 % und 1,5 %)	7	Hg-Präparat	
Cu-Oxychlorid B (3 %)	7	C (Paste 1 : 1)	0*
Cu-Präparat I (Paste 3 %)	11	C/A (Paste 1 : 1)	2*
Cu-Präparat II (1,5 %)	9	unbeh. Kontrolle (270 Bäume)	3
Cu-Präparat D (Paste 1 : 1)	0		
Hg-Präparat I (0,2 %)	13		
Zinn-Präparat Brestan (0,5 %)	4		
unbehandelte Kontrolle	15		

*) C und C/A wurden erst im Mai angewendet, so daß die zwei Bäume bereits vor Behandlung infiziert sein konnten.

IV. Bekämpfungsversuche gegen den im Boden saprophytisch lebenden Pilz

Zur Prüfung der Wirksamkeit verschiedener neuer Cu-Streupräparate auf den Pilz im Boden wurde Gartenerde (sandiger Lehm) in Kästen mit einer Sporensuspension von *Phytophthora cactorum* übergossen und die Erde mit Cu-Mitteln bestreut. Nach einigen Tagen wurden auf die Erde jedes Kastens 40 gesunde Äpfel (Cox-Orange, Frhr. v. Berlepsch) gelegt und 14 Tage lang einem feinen Sprühregen ausgesetzt. Alle 40 Äpfel des Kontrollkastens (ohne Cu) wurden faul durch *Phytophthora*, im Kasten mit Präparat a faulten 22

von 40, mit b 39 von 40 und mit c 36 von 40. Die Ausbreitung der Faulstellen im Apfel wurde in den mit Cu behandelten Kästen etwas verzögert. Cu-Präparate eignen sich demnach nicht für eine Bekämpfung des Pilzes im Boden.

C. Therapie

Einleitend wurde auf die großen Schwierigkeiten der Heilung eines durch *Phytophthora cactorum* erkrankten Baumes hingewiesen. Eine Behandlung frühzeitig erkannter Faulstellen durch Ausschneiden ist wegen des großen Arbeitsaufwandes und der häufigen Erfolglosigkeit keine geeignete Maßnahme. Es ist vielmehr ein Präparat erforderlich, das durch das Rindengewebe bis aufs Holz vordringen kann und in allen vom Pilz infizierten Zonen fungizid wirksam bleibt. Eine lokale phytotoxische Wirkung kann u. U. dabei in Kauf genommen werden.

Acht neue Präparate verschiedener Firmen wurden in Klimakammern und im Freiland auf ihre Wirkung untersucht. Jeweils 20 bis 40 im Durchschnitt 5 cm lange Faulstellen an künstlich infizierten zweijährigen Cox-Orange-Apfelbäumen wurden zur Feststellung der Faulstellenausbreitung in den äußeren Rindenzonen angeschnitten und nach Antrocknen mit den verschiedenen Mitteln überstrichen; die Bonitur erfolgte nach 2 Monaten. Die Ausbreitung der Faulstellen von 5 auf 12 bis 25 cm Länge wurde durch kein Präparat behindert.

Auch kräftiges Gießen der Bäume mit 1 %igen Lösungen der Präparate verhinderte in keinem Fall eine 24 Stunden später durchgeführte Infektion noch brachte es sie zum Stillstand. Zwei weitere Fungizide töteten die gesunden Geweberandzonen um die Faulstellen herum ab und vernichteten in diesen Teilen auch den Pilz. Ihre phytotoxische Wirkung war jedoch so stark, daß ältere Bäume weit oberhalb der Behandlungsstelle und an den Wurzeln geschädigt wurden.

D. Unterschiedliche Kupferverträglichkeit verschiedener Herkünfte von *Phytophthora cactorum*

Neuerdings ist in der Praxis wegen des häufig ausbleibenden Erfolges bei intensiven Kupferspritzungen die Befürchtung aufgetaucht, daß der Pilz durch häufige Kupferbehandlungen Cu-verträglicher werden könnte. Da eine unterschiedliche Resistenz verschiedener Herkünfte von *Tilletia tritici* gegenüber Quecksilber bei der Saatgutbeizung nach Untersuchungen von WELTZIEN (1957) auftreten kann, muß mit diesem Problem nicht nur bei Insekten und Bakterien, sondern auch bei Pilzen gerechnet werden.

Um festzustellen, ob verschiedene Herkünfte von *Phytophthora cactorum* auf Kupfer unterschiedlich reagieren und ob durch mehrere Passagen in Kupferlösungen eine höhere Kupferverträglichkeit entstehen kann, wurde Myzel von drei Herkünften in Lösungen von Ob 21 kultiviert. In 100 ccm Erlenmeyerkolben wurden 30 ccm einer synthetischen Nährlösung nach SCHWINN (1958), pH 5,2, mit Ob 21 in Konzentrationen von 0,004, 0,02 und 0,04 % versetzt und darin der Pilz in jeweils 6 bis 10 Wiederholungen 2 bis

3 Wochen lang kultiviert. Stückchen von Myzel, das, auch ohne Kupferzusatz, keine Sporen gebildet hatte, wurden anschließend entnommen und auf Bohnenmehl-Agar übergeimpft. Nach einigen Tagen wurden aus diesem mit dem Korkbohrer gleich große Myzelstücke (ohne Sporangien) ausgestanzt und erneut in Cu-Nährlösungen übertragen. Von Passage 5 bis 8 unterblieb die Zwischenschaltung von Bohnenmehl-Kulturen. Als Kontrollen dienten Kulturen, die in 2- bis 3wöchigem Wechsel in Cu-freier synthetischer Nährlösung kultiviert wurden. Nach der 9. Passage wurde das Myzel abfiltriert, gewaschen, bei 80 °C getrocknet und gewogen. Die Herkunft B wurde von H. Kröber 1952 in einer nicht mit Kupfer behandelten Anlage bei Bonn, die Herkünfte T und V von mir 1957 im Kreis Kempen in mehrere Jahre mit 3 bis 5 % Cu-Oxychlorid behandelten Anlagen isoliert. Herkunft B war vor Versuchsbeginn 1957 erneut in Apfelbäume infiziert und rückisoliert worden.

Nach Tabelle 8 und Abbildung 6 ist das Wachstum der beiden Herkünfte T und V vom Niederrhein in 0,02 % Ob 21 wesentlich besser als das der Herkunft B. Die starke Wachstumshemmung bei B und die viel geringere bei T und V trat sowohl bei den Kulturen auf, die in der 9. Passage zum ersten Male in Cu-Lösungen wuchsen, als auch bei solchen, die zum neunten Male der dreiwöchigen Cu-Passage ausgesetzt waren. Die unterschiedliche Cu-Verträglichkeit von T und V einerseits und B andererseits, die nach dem t-Test bei P = 0,001 sehr gut gesichert ist, wurde auch an Hand des erreichten Myzelflockendurchmessers bei der 1. bis 8. Passage beobachtet. Die größere Cu-Verträglichkeit bei T und V ist also kein Passageeffekt, sondern eine herkunftsspezifische Eigenschaft.

Tabelle 8

Beeinflussung des Myzelwachstums von *Phytophthora cactorum* durch Cu-Passagen (Ob 21)

Herkunft	Behandlung während der I. bis VIII. Passage	IX. Passage					
		Kontrolle			0,02 % Ob 21		
		$\bar{x}$ (mg)	s	%	$\bar{x}$ (mg)	s	%
B	0,004 % Ob 21				16,6	2,2	54***
	0,02 % Ob 21				11,3	1,6	36
	Kontrolle	30,9	2,1	100	11,0	2,8	36
T	0,02 % Ob 21				26,2	3 5	70°
	Kontrolle	37,6	3,0	100	25,0	2,7	67
V	0,02 % Ob 21				30,2	2,6	92***
	Kontrolle	33,0	2,9	100	21,6	3,1	66

Beim Vergleich der erstmaligen mit der neunmaligen Kultivierung in 0,02 % Ob 21 in der 9. Passage bei der Herkunft V und in geringerem Maße auch bei B in 0,004 % sind jedoch darüber hinaus deutliche Wachstumsunterschiede festzustellen: V erreichte in 0,02 % Ob 21 der 9. Kultivierung ein

Myzeltrockengewicht von 92 %, in der ersten ein solches von 66 % der Kontrolle (P = 0,001). B von der 1. bis 8. Passage in 0,004 % Ob 21, in der neunten in 0,02 % Ob 21 kultiviert, erreichte 54 % Trockengewicht der Kontrolle gegenüber 36 % der ersten Kultivierung in 0,02 % Ob 21 (P = 0,001). Das Myzelwachstum von B und T in der 9. Passage in 0,02 % Ob 21 war hingegen nicht besser als das der Vergleichskontrollen in der ersten Kupfer-Kultivierung.

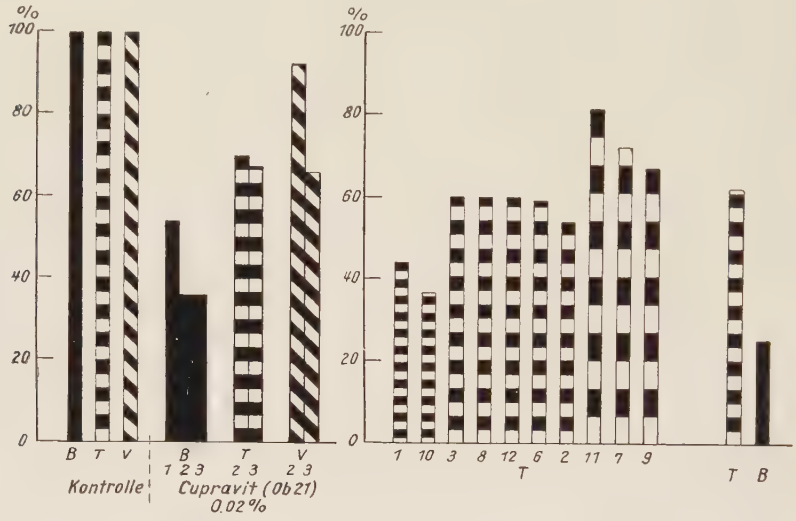


Abb. 6 (links). Myzelwachstum verschiedener Herkünfte von *Phytophthora cactorum* in der IX. Cu-Passage. Herkunft B aus Anlage ohne Cu-Behandlung, Herkünfte T und V aus solchen mit Cu-Spritzungen.

Abb. 7 (rechts). Populationsglieder der Herkunft T mit unterschiedlicher Cu-Empfindlichkeit (graphische Darstellung nach Tab. 9).

1 = I. bis VIII. Passage in 0,004 % Ob 21, IX. in 0,02 % Ob 21,
2 = I. bis VIII. Passage in 0,02 % Ob 21, IX. in 0,02 % Ob 21,
3 = I. bis VIII. Passage in Kontrolle (ohne Cu), IX. in 0,02 % Ob 21
(%-Werte aus Tab. 8)

In 0,04 % Ob 21 unterblieb das Wachstum bei allen Herkünften oder war äußerst gering. Kulturen wurden in der 9. Passage 9 Wochen lang in 0,04 % Ob 21 gleichzeitig mit Kontrollkulturen (vorher 8 Passagen ohne Cu) kultiviert und anschließend durch Überimpfen auf Bohnenmehl-Agar auf ihre Vitalität geprüft. Von 10 Myzelstückchen wuchsen von B weder die zum neunten Male in Cu-Lösungen kultivierten noch die in der ersten Cu-Kultivierung aus, von T ein einziges aus der ersten Kultivierung.

Wachstumsversuche auf Bohnenmehl-Agar mit 0,05 % Ob 21 ergaben, daß bei B in vier von fünf Kulturen kein Myzel, in der fünften 1,5 cm² auswuchs, während in allen fünf Kulturen im Mittelwert bei T 3,6 cm², bei V 2,8 cm² Myzelflächen nach 14 Tagen gemessen wurden (Kontrollen ohne Cu: B = 25 cm², T und V = 30 cm²).

Einsporkulturen (aus Zoosporen) der Herkunft T zeigten eine unterschiedliche Cu-Verträglichkeit auch innerhalb der Herkunft. In Tabelle 9 und Abbildung 7 sind die Trockengewichte von 10 Einsporkulturen der Herkunft T in synthetischer Nährlösung mit und ohne 0,02 % Ob 21 (3 Wiederholungen) im Vergleich zur Herkunft T und Herkunft B zusammengestellt. Die Populationsglieder 1 und 10 erreichten in einer dreiwöchigen Kultivierung 39,7 ± 9,9 % (I), 2, 3, 6, 8 und 12 = 57,3 ± 9,1 % (II), 7, 9 und 11 dagegen 72,6 ± 12,3 % (III) des Trockengewichtes der Kontrollen. Unterschiede innerhalb der Kontrollen sind statistisch nicht gesichert, die Gruppe I gegenüber II und III, II gegenüber III sind bei P = 0,01 bis 0,001 gut gesichert. Die Herkunft T als Population erreichte 61 % des Trockengewichtes der Kontrollen, also etwas mehr als Gruppe II, die Herkunft B lag mit 25 % tiefer als alle Populationsglieder von T.

Tabelle 9

Unterschiedliche Cu-Empfindlichkeit
bei Populationsgliedern (Einsporkulturen) der Herkunft T von *Phytophthora cactorum*

Populationsglied		Kontrolle		0,02 % Ob 21		% der Kontrolle
		$\bar{x}$ (mg)	s	$\bar{x}$ (mg)	s	
I	1	25,3	6,5	11,0	3,2	43
	10	35,8	10,6	13,0	2,6	36
II	3	24,6	0,02	14,4	1,2	59
	8	24,2	1,9	14,2	3,5	59
	12	26,7	6,2	15,7	3,4	59
	6	31,1	18,5	18,0	2,6	58
	2	21,9	1,7	11,6	0,8	53
III	11	24,4	2,9	19,6	4,3	80
	7	26,3	6,0	18,7	1,8	71
	9	28,7	2,0	18,9	2,5	66
Herkunft T		30,1	8,7	18,1	2,4	61 ***
Herkunft B		29,6	6,1	7,3	0,7	25

I
II
III

** *** 39,6 ± 9,9
57,3 ± 9,1
** 72,6 ± 12,3

Einzelne Herkünfte und innerhalb einer Herkunft einzelne Populationsglieder haben demnach eine unterschiedliche Cu-Verträglichkeit (T und V besser als B), wobei offenbleiben muß, ob dieser Effekt auf die intensiven Cu-Behandlungen in den Anlagen, aus denen T und V isoliert wurden, zurückgeht.

Diskussion

Da die Gefahr einer Infektion des Apfelbaumes durch *Phytophthora cactorum* während der ganzen Vegetationszeit besteht (vgl. Braun u. Kröber

1958), kann ein Fungizid prophylaktisch nur erfolgreich verwendet werden, wenn es ausreichende Regenbeständigkeit und gleichzeitig dauerhafte fungistatische oder fungizide Wirkung besitzt. Mit großer Haftfähigkeit ist aber häufig eine zu starke Bindung der fungiziden Substanzen verbunden, so daß das am Mittelbelag ablaufende Wasser Sporenkeimungen an fungizidfreien Stellen nicht unterdrücken kann (Tab. 1 und 3: A in Nekton). Diesem Extrem auf der einen Seite stehen Mittel gegenüber, die zwar genügend fungistatisch wirkende Bestandteile in Lösung geben, sich aber so schnell von ihrer Unterlage ablösen, daß sie nach wenigen Niederschlägen abgewaschen sind. Die von mir geprüften Cu-Oxychloride wurden anfänglich bis zu 50 % abgewaschen, ihre Ablösbarkeit nahm dann rasch ab, mit ihr auch die fungistatische Wirkung des Ablaufwassers. Bei einem Quecksilber- und einem Kupferpräparat war die Sporenkeimung im Ablaufwasser völlig unterdrückt, obwohl nur nicht auszuwiegende Substanzmengen abgewaschen wurden. Hier ist also die Forderung erfüllt, daß trotz sehr schlechter Ablösbarkeit genügend wirksame Substanz gelöst wurde, um eine Sporenkeimung zu verhindern. Hierzu sind nach den Ergebnissen des Sporenkeimtestes nur 15 g Cu oder 4 g Hg in 100 Liter Wasser (Tab. 3) notwendig. Fungistatisch wirksames Ablaufwasser ist deshalb so entscheidend, weil es Wunden und Risse, auf die *Phytophthora cactorum* als Wundparasit bei der Infektion angewiesen ist, weitgehend schützen kann.

Da die Stämme vom Boden aus mit Myzel oder Sporen, ferner auf anfälligen Unterlagen im Boden über die Wurzeln infiziert werden können und darüber hinaus Falläpfel am Boden sehr leicht erkranken und dann große Sporenmengen liefern, ist neben einer prophylaktischen Stammbehandlung die Bekämpfung des Pilzes im Boden sehr wichtig. Alle darauf abzielenden Versuche mit chemischen Mitteln blieben bisher unbefriedigend. Zur Zeit laufende, Erfolg versprechende hygienische Maßnahmen lassen vermuten, daß erst die Vernachlässigung der Hygiene zu der besorgniserregenden Zunahme der Kragenfäule im Rheinland geführt hat.

Aus ersten Versuchen über die Cu-Resistenz einzelner Herkünfte ist zu entnehmen, daß eine Herkunft eine Population aus Gliedern mit unterschiedlicher Cu-Verträglichkeit ist (Tab. 9).

Die Herkunft V war in der 9. Cu-Kultivierung nach acht Passagen in 0,02 % Ob 21 Cu-verträglicher als nach entsprechenden Passagen ohne Kupfer; bei der Herkunft T traten keine Unterschiede auf. Es ist anzunehmen, daß im ersten Falle von einem Myzelstück mit unterschiedlichen Populationsgliedern (vgl. Tab. 9) ausgegangen wurde, im zweiten aber von einem Myzelstück mit mehr oder weniger gleich Cu-empfindlichen Gliedern; dasselbe gilt für die Herkunft B in 0,02 % Ob 21. Offenbar werden durch Passagen in Kupferlösungen resistentere Populationsglieder ausgelesen und dadurch die Cu-Verträglichkeit der Herkunft erhöht. Vielleicht läßt sich so die bessere Cu-Verträglichkeit der Herkünfte aus seit Jahren mit Kupfer behandelten Bäumen im Vergleich zur Herkunft aus unbehandelten erklären. Es scheint deshalb ratsam zu sein, zwischen Hg- und Cu-Präparaten jährlich zu wechseln.

Zusammenfassung

Zur Bestimmung der Regenbeständigkeit fungizider Mittel und zur Sporenkeimprüfung bei *Phytophthora cactorum* sind neue Verfahren ausgearbeitet worden.

Mehrere Kupfer-Oxychloride eigneten sich nicht für eine prophylaktische Anwendung gegen *Phytophthora cactorum* am Apfelbaum, weil nach wenigen Niederschlägen die fungistatische Wirkung des am Stamm ablaufenden Wassers nicht ausreichte, um die in der Rinde vorhandenen Wunden oder Risse vor Infektionen zu schützen.

Ein Hg- und ein Cu + organ.-Präparat zeichneten sich durch Regenbeständigkeit bei gleichzeitiger lang anhaltender fungistatischer Wirkung aus, so daß sie der Praxis versuchsweise als Prophylaktikum empfohlen werden können.

Bodenentseuchung mit chemischen Mitteln und chemotherapeutische Behandlungen erkrankter Bäume verliefen negativ.

Zwei Herkünfte aus seit Jahren mit Kupfer gespritzten Anlagen waren Cu-verträglicher als eine Herkunft von unbehandelten Bäumen. Populationsglieder innerhalb einer Herkunft ließen sich in drei Gruppen mit unterschiedlicher Cu-Empfindlichkeit einteilen. Durch Passagen in Kupferlösungen (0,004 bis 0,02 % Ob 21) wurde eine Herkunft, offenbar durch Auslese der resistenteren Populationsglieder, Cu-verträglicher.

Summary

New methods of determining resistance to the action of rain in fungicides and of estimating spore germination in *Phytophthora cactorum* have been worked out.

Several copper oxycloride compounds proved ineffective in prophylactic treatment of *Phytophthora cactorum* on apple trees, owing to the fact that after light rainfall the fungistatic effect of the water that ran off the stem was insufficient to protect the wounds or fissures in the bark from infection.

One Hg and one Cu preparation proved effective owing to their resistance to rain and the long duration of their fungistatic activity and can therefore be recommended in practice, on an experimental basis, as prophylactic agents.

Soil sterilization by chemical agents and chemotherapeutic treatment of diseased trees gave negative results.

Two isolations from plantations that had been treated for several years with copper were more tolerant of Cu than an isolation from untreated trees. Populations from within an isolation could be separated into three groups differing in Cu sensitivity. By passage through Cu solutions (0,004 to 0,012 % Ob 21) one isolate was made Cu tolerant, evidently by selection of the more resistant members of the population.

Literaturverzeichnis

Baines, R. C., 1939: *Phytophthora* trunk canker of collar rot of apple trees. J. agr. Res. **59**, 159—184.

Biedermann, W., und E. Müller, 1952: Die Inaktivierung des gelösten Kupfers (II) in Fungiziden. Phytopath. Z. **18**, 307—338.

Blumer, S., und J. Kundert, 1951: Methoden der biologischen Laborprüfung von Kupferpräparaten. Phytopath. Z. **17**, 161—199.

Braun, H., und H. Kröber, 1958: Untersuchungen über die durch *Phytophthora cactorum* (Leb. et Cohn) Schroet. hervorgerufene Kragenfäule des Apfels. Phytopath. Z. **32**, 35—94.

Finney, D. J., 1947: Probit Analysis. A statistical treatment of the sigmoid response curve. Cambridge, Univ. Press.

Roosje, G. S., 1957: Het mycologisch onderzoek. Stambasisrot (*Phytophthora cactorum* (Leb. et Cohn) Schroeter. Jaarverslag, Proefstat. v. d. fruitteelt in de volle grond, Wilhelminadorp.

Soenen, A., et A. Busschot, 1954: La pourriture du collet sur arbres fruitiers. Fruit belge **22**, 167—170.

Smith, H. C., 1953: Collar-rot of apple trees in Essex. Plant Pathol. **2**, 85—86.

Schwinn, F. J., 1958: Untersuchungen zur Systematik der Gattung *Phytophthora*. Diss. Univ. Bonn.

Ten Houten, J. G., 1953: *Phytophthora*-rot van appelbomen. T. Pl. Ziekt. **59**, 216.

— —, 1954: Stambasisrot van appels, veroorzaakt door *Phytophthora cactorum* (Leb. et Cohn) Schroet. Fruitteelt **44**, 14—17.

Weltzien, H. C., 1957: Untersuchungen über den Befall von Winterweizen durch *Tilletia tritici* (Bjerk.) Winter unter besonderer Berücksichtigung der Frage der Beizmittelresistenz. Phytopath. Z. **29**, 121—150.

Istituto di Ricerche Agrarie Società Montecatini — Signa (Italia)
Direttore: Dr. G. Pellegrini

Metodo per la diagnosi precoce dell' «occhio di pavone» dell' olivo (*Cycloconium oleaginum* Cast.)

di

Nicola Loprieno e Ivan Tenerini

Con 6 figure

Premessa

Le conoscenze attuali su taluni particolari aspetti del ciclo biologico del *Cycloconium oleaginum* Cast., agente della ben nota malattia dell' «occhio di pavone», sono piuttosto scarse ed i pareri degli studiosi risultano contraddittori su alcuni punti essenziali dell' epidemiologia dell' agente patogeno: da tale insufficiente conoscenza del problema derivano i frequenti insuccessi riportati dagli agricoltori nel controllo pratico della malattia.

L'importanza economica dei danni apportati alla produzione olearia dall' «occhio di pavone», presente in tutta l'area di distribuzione geografica dell' olivo (3), e l'attuale impossibilità di lottare in modo razionale contro il Cicloconio hanno suscitato ormai l'interesse degli specialisti, tanto che si nota da qualche anno un fervore di studi sull'argomento.

Wilson e Miller (8) hanno indagato sulla malattia nell'ambiente della California, Castellani (1, 2) in Sardegna, Papo e Peleg (6) in Israele, Modugno Pettinari (5) nel Lazio, Georghiou (4) in Cipro e recentemente Rambelli (7) nell'ambiente romagnolo.

Il problema è stato affrontato anche da noi, con una serie di ricerche di laboratorio e di pieno campo in Toscana — nella cui agricoltura l'olivo occupa un posto predominante — con lo scopo di completare e chiarire le informazioni sul ciclo biologico del parassita, utilizzabili in pratica per il controllo della malattia.

Nella presente nota si riferisce su un metodo di diagnosi precoce dell' «occhio di pavone», quando la malattia è ai primi stadi di sviluppo e la presenza del patogeno non è ancora rilevabile ad occhio nudo.

Schema del ciclo biologico del parassita

Giova riportare in sintesi il ciclo biologico del *Cycloconium oleaginum* Cast. dall'infezione alla comparsa della malattia, per chiarire il momento in cui la presenza del patogeno, pur non essendo visibile macroscopicamente

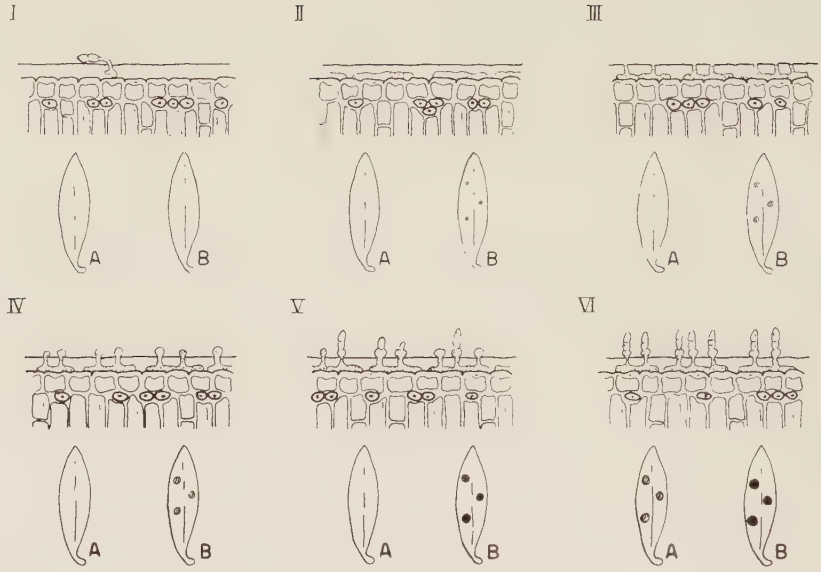


Fig. 1. Rappresentazione schematica del ciclo biologico del *Cycloconium oleaginum* Cast. I = Infezione. II = Sviluppo vegetativo. III = Fuoriuscita del patogeno. IV = Produzione dei rami conidiofori. V = Sporificazione. VI = Comparsa delle macchie.
A: foglia di olivo infetta (aspetto macroscopico).
B: la stessa foglia dopo l'immersione nella soluzione di soda.

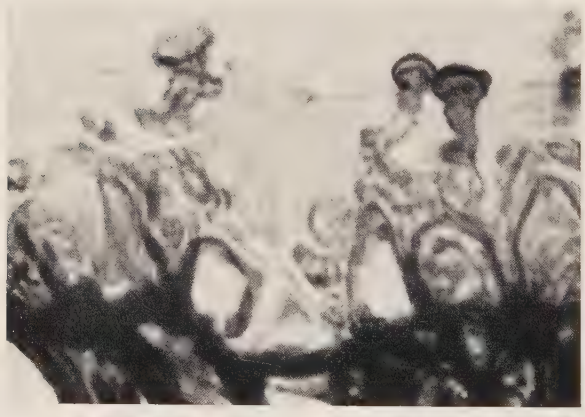


Fig. 2. Sezione trasversale della pagina superiore di foglia di olivo infetta: conidiofori di *Cycloconium oleaginum* (ca. × 1240).

sulla vegetazione dell'olivo, è rilevabile col metodo da noi messo a punto; per comodità abbiamo diviso tutto il periodo in esame in vari stadi (fig. 1).

I = Infezione. Come è noto, il meccanismo di infezione è regolato dalle condizioni atmosferiche: in presenza di umidità sotto forma di goccioline d'acqua sulla foglia ed a temperature comprese tra 7 ° e 25 °C., i conidi germinano ed il tubo promicelico successivamente prodotto perfora la cuticola, penetrando negli strati interni della foglia.

II = Sviluppo vegetativo. Avvenuta l'infezione, il micelio fungino si sviluppa nell'interno dei tessuti fogliari. Sulle zone di insediamento del parassita i pareri sono molto discordi: in una nota descrit-

tiva sul *C. oleaginum*, a cui rimandiamo, Gambogi (3) riporta le conclusioni dei vari studiosi.

III = Fuoriuscita del patogeno. Lo sviluppo vegetativo interno del *C. oleaginum* si conclude con l'emissione di ife le quali, partendo dal corpo micelico ormai stabilizzato nella sua vita parassitaria, erompono all'esterno.

IV = Produzione dei rami conidiofori. In corrispondenza dell'ifa fuoriuscita all'esterno, si forma un ramo conidioforo globoso che si adagia sulla superficie della pagina superiore (figg. 2, 3).

V = Sporificazione. Ha inizio quindi la produzione dei conidi; in questo stadio sono presenti contemporaneamente conidi maturi in numero molto ridotto e, in grande maggioranza, conidi in via di sviluppo. In tale momento, nonostante la presenza di alcuni conidi, la malattia non è ancora visibile ad occhio nudo.

VI = Comparsa delle macchie. Ormai i conidi sono tutti formati (fig. 4) e il ciclo biologico ha termine, essendo presenti i nuovi organi di riproduzione della malattia. Verso la fine di questo stadio le macchie del Cicloconio cominciano ad essere visibili ed il riconoscimento delle stesse è proprio dovuto alla quantità di conidi presenti che, con il loro aspetto brunastro, inducono la colorazione scura delle macchie.

Indipendentemente dallo sviluppo descritto, che costituisce la norma, il *Cycloconium oleaginum* può essere visibile all'esterno senza che si abbia, sulla corrispondente superficie fogliare, produzione di conidiofori e conidi. Ciò avviene quando, per condizioni ambientali particolari, si verifica un abbondante sviluppo micelico del fungo nei primi strati della cuticola, visibile all'esterno sotto forma di macchia circolare biancastra, tale manifestazione atipica e' stata riscontrata anche da Rambelli (7).

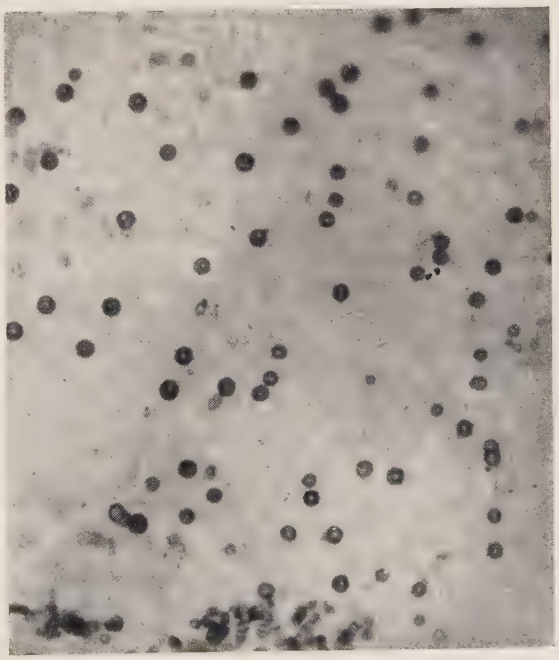


Fig. 3. Microfotografia della pagina superiore di foglia di olivo colpita da *Cycloconium oleaginum* e immersa in soluzione di soda; IV stadio: produzione dei rami conidiofori (× 270).

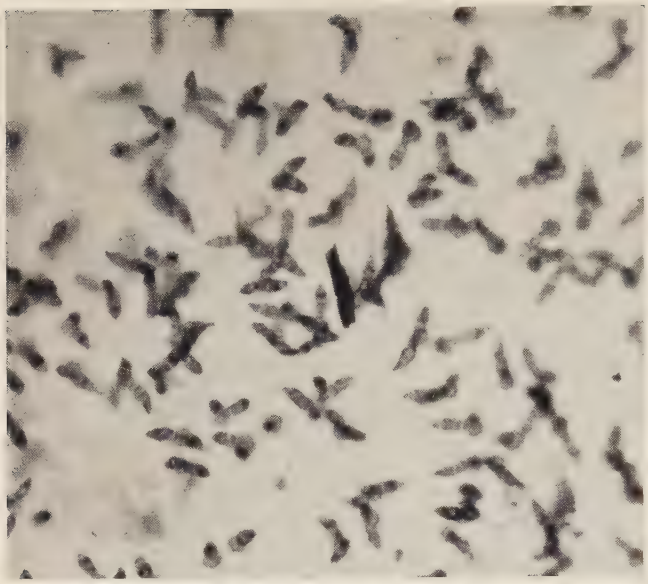


Fig. 4. Microfotografia della pagina superiore di foglia di olivo colpita da *Cycloconium oleaginum* e immersa in soluzione di soda; VI stadio; produzione in massa dei conidi (× 270).

Descrizione del metodo

Il metodo da noi messo a punto per la diagnosi della malattia consiste nell'immersione di foglie di olivo per 2—3 minuti in soluzione acquosa di idrato sodico o potassico al 5 %, mantenuta a 50 °—60 °C.

Con tale trattamento, su foglie di olivo, precedentemente infettate dal *Cycloconium oleaginum*, si nota ad occhio nudo lo sviluppo, sulla pagina superiore della foglia, di macchie scure, di dimensioni variabili, corrispondenti ad aree occupate dal parassita. Su tali aree al microscopio si rileva la presenza del *Cycloconium oleaginum* sin dal III stadio dello schema da noi riportato: si notano, cioè, disseminate nell'area della macchia le ife erompenti dai tessuti sottostanti. Operando allorquando la malattia è al II stadio, possono essere messe in risalto delle aree scure leggermente accennate, su cui al microscopio non si rileva ancora alcuna presenza dell'agente patogeno: anche in tal momento la reazione è da considerarsi positiva. Infatti su foglie di olivo della cultivar Correggiolo, infettate artificialmente in scatola Petri deponendo delle goccioline di sospensione conidica sulla pagina superiore, ed incubate in camera umida a 16 °C con illuminazione artificiale a tubi fluorescenti del tipo Philips TL 55, 40 W (fotoperiodo di 14 ore giornaliere e intensità luminosa di 3200 lumen per m^2), a distanza di 10 giorni dall'infezione, si notano, operando secondo il metodo descritto, in corrispondenza dei punti di inoculazione, delle piccolissime aree scure, mentre al microscopio non si rileva ancora la presenza del *Cycloconium oleaginum;* nei giorni successivi la reazione diventa più sensibile ed il patogeno è presente sulla superficie fogliare con le ife (III stadio) e con i conidiofori (IV stadio).

Quando la malattia è negli ultimi stadi, le macchie sono sempre più nitide: al V stadio, quando già si nota la formazione dei primi conidi, e

all'inizio del VI stadio, quando la massa dei conidi formatisi non è ancora tale da potersi rilevare ad occhio nudo, le macchie scure che si sviluppano sulle foglie immerse in soda si presentano del diametro di mm 2—3.

Nella fig. 1, sotto lo schema della sezione fogliare della pagina superiore, sono disegnate due foglie di olivo: con A sono contraddistinte le foglie infettate dal *Cycloconium oleaginum* come si presentano ad occhio nudo (la malattia e' visibile soltanto al VI stadio) e con B le stesse foglie immerse in soluzione di soda. Nella fig. 5 sono riprodotte 4 foglie di olivo, della cultivar Frantoio, fotografate prima e dopo l'immersione in soda. La foto e' stata eseguita il 19. VII. 1958; le macchie si riferiscono ad una infezione avvenuta il 12. VI. 1958. Nella fig. 6 e' riprodotta la fotografia eseguita al microscopio in corrispondenza delle macchie sviluppatesi sulle foglie della fig. 5: abbiamo ripreso la malattia nello stadio V.

Fig. 5. Foglie di olivo (cv. Frantoio) infettate da *Cycloconium oleaginum* in campo in condizioni naturali il 12. VI. 1958 e (in basso) sottoposte alla reazione della soda il 19. VII. 1958: in alto le foglie prima dell'immersione nella soluzione di soda.

Lo sviluppo delle macchie, dopo l'immersione delle foglie in soda, avviene, ma molto lentamente, anche impiegando una soluzione all' 1 % di soda e a freddo; esso è più rapido ed intenso sia aumentando la concentrazione della soda, sia riscaldando la soluzione. Per il metodo descritto è stata scelta, dopo ripetute prove, una concentrazione del 5 % e la soluzione è mantenuta a 50 °—60 °C., in quanto queste condizioni permettono un ottimo sviluppo di macchie nitide e ben definite, senza provocare alterazioni nei tessuti fogliari sani: ciò consente un facile ed esatto conteggio delle stesse per eventuali determinazioni dell'intensità dell'attacco fungino. Prolungando il tempo di immersione delle foglie nella soluzione di soda, le zone scure sviluppatesi si decolorano lentamente.

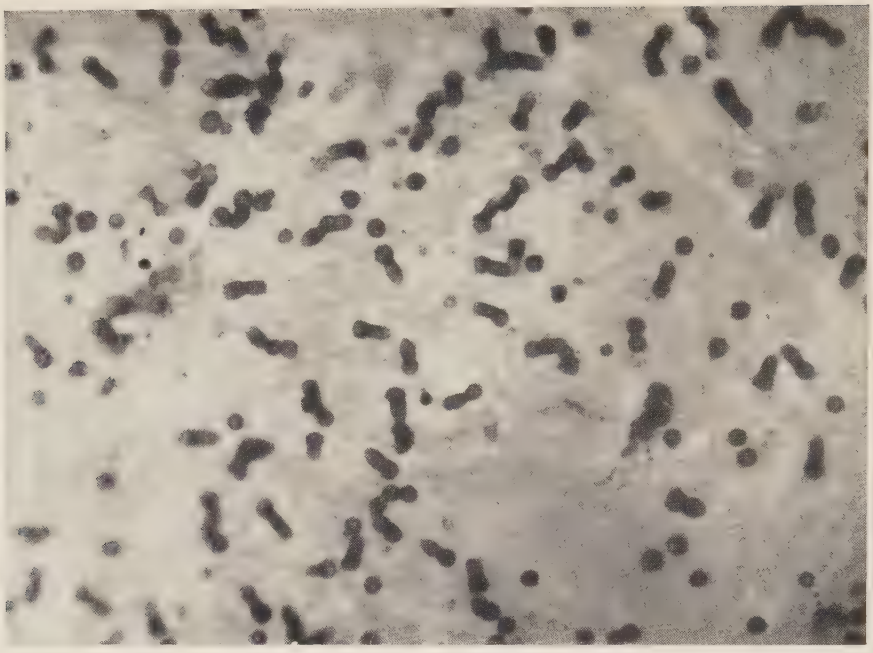


Fig. 6. Microfotografia in corrispondenza delle macchie rivelatesi sulle foglie della fig. 5 dopo l'immersione nella soluzione di soda: V stadio (× 270).

Per poter rivelare con certezza la malattia su foglie giovani occorre impiegare una soluzione di soda a temperatura di circa 20 °C. Ove infatti si usasse per dette foglie una soluzione di soda a 50 °—60 °C. non si svilupperebbero, in corrispondenza dei punti attaccati dal parassita, le caratteristiche macchie scure, ma si originerebbero delle zone decolorate, diafane, anche in punti dove non e' presente il patogeno.

La colorazione scura delle zone fogliari occupate dal *Cycloconium oleaginum*, dopo immersione delle foglie in soda, è dovuta alla reazione della soda sulle cellule dell'epidermide attaccate dal parassita. Il meccanismo di tale reazione non ci è ancora noto.

La reazione non avviene impiegando soluzioni alcooliche di soda o di potassa, nè soluzioni acquose di ammoniaca.

Discussione

Il metodo di diagnosi della malattia descritto offre la possibilità di indagare con maggiore precisione sul ciclo biologico del *Cycloconium oleaginum* Cast.: tale metodo non solo rende possibile di individuare sin dai primi stadi l'avvenuta infezione delle foglie ad opera del patogeno, ma, soprattutto, facilita notevolmente la determinazione dei periodi intercorrenti tra l'infezione e la fuoriuscita del patogeno (periodo di incubazione) e tra l'infezione e la produzione dei nuovi organi riproduttivi (periodo di sporificazione) (2): esso ci consente, cioè, di determinare la velocità di sviluppo della malattia nei suoi vari periodi, la cui durata dipende dalle particolari condizioni ambientali.

Mediante l'impiego di tale metodo siamo riusciti a determinare rapidamente — l' 8. VII. 1958 — un'infezione di *Cycloconium oleaginum* avvenuta nel nostro ambiente il 12. VI. 1958, in seguito a condizioni ambientali particolarmente ottimali (36 ore di temperatura compresa tra 13 °, 5 e 16 °C.; 5 mm di pioggia caduti tra il 10 e il 12/6; il cielo nuvoloso, inoltre, ha permesso alle foglie di rimanere bagnate sino al 13. VI. 1958), in una epoca, cioè, non sospettata per il verificarsi di infezioni; le macchie della malattia relative a tale infezione sono comparse solo il 2. IX. 1958.

Tale metodo non solo permette di approfondire le nostre conoscenze sulle relazioni esistenti tra le condizioni climatiche nelle diverse zone olivicole e lo sviluppo della malattia, ma potrebbe avere particolare importanza nel campo pratico per il perfezionamento della lotta contro tale malattia. Da anni ormai in tutto il mondo si vanno moltiplicando gli sforzi per la realizzazione di prodotti anticrittogamici con attività endoterapica, di prodotti, cioè, curativi che agiscano sui patogeni dopo l'avvenuta infezione e prima che questi possano, col loro insediamento, provocare danni economici sensibili.

Fra le altre fitopatie di interesse agrario, l' «occhio di pavone» dell'olivo potrebbe essere suscettibile di tale nuovo tipo di lotta: data la lunghezza del ciclo biologico del parassita, sarebbe possibile l'intervento nel momento in cui la malattia non ha ancora causato danni apprezzabili e la presenza del patogeno nelle foglie è rilevabile con il metodo da noi messo a punto.

Tale metodo, di facile applicazione pratica e attuabile direttamente in campo, permetterebbe di eseguire il trattamento anticrittogamico a ragion veduta con immaginabile economia nel costo dei trattamenti fitosanitari e con la sicurezza di un completo successo nel controllo di questa grave malattia. Infatti l'olivicoltore potrebbe utilmente intervenire tutte le volte che le condizioni climatiche facciano ragionevolmente sospettare le possibilità di infezioni e che la successiva applicazione del metodo gli abbia dato di ciò conferma e fornito elementi sicuri sull'entità dell'infezione in atto.

Riassunto

Nella presente nota è descritto un metodo per la diagnosi precoce dell' «occhio di pavone», la ben nota malattia dell'olivo provocata da *Cycloconium oleaginum* Cast.. Esso consiste nell'immersione di foglie di olivo infette, su cui ancora non sono visibili macroscopicamente i sintomi della malattia, in soluzione acquosa di idrato sodico o potassico al 5 % riscaldata a 50 °—60 °C.: sulle foglie, in corrispondenza delle zone occupate dal patogeno, si sviluppano delle aree scure.

Con tale metodo si riesce a rilevare la malattia sin dallo stadio in cui il patogeno si sviluppa nell'interno dei tessuti fogliari, prima ancora della emissione delle ife che formeranno i rami conidiofori e, successivamente, i conidi.

Il metodo può essere utilizzato nello studio del ciclo biologico del *Cycloconium oleaginum* e per individuare il momento in cui è possibile l'intervento fitosanitario con eventuali fungicidi curativi.

Summary

A method is described for the early-diagnosis of "olive leaf spot" caused by *Cycloconium oleaginum* Cast. It consists of dipping the infected leaves, in which macroscopical symptoms of the disease are not yet visible, into a water solution of NaOH (5 %) heated to 50 °—60 °C; on the leaves, in the areas where pathogen is present, dark spots appear.

By this method the disease can still be detected when the pathogen grows in the inside of leaf tissues, i. e. before the hyphae, which will produce conidiophores and finally conidia, arise from the subcuticular mycelium.

The method is useful for researches on the life cycle of *Cycloconium oleaginum* Cast. and to determine the right time when endotherapeutic fungicides should eventually be applied.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird eine Methode zu frühzeitiger Diagnose des sogenannten „Occhio di pavone", (Erreger: *Cycloconium oleaginum* Cast.), der bekannten Krankheit des Ölbaums, angegeben.

Nach dieser Methode muß man befallene Ölblätter, auf denen die Symptome der Krankheit makroskopisch noch nicht sichtbar sind, in eine auf 50 ° bis 60 °C erwärmte wässerige Lösung von NaOH 5 % eintauchen; auf diesen Blättern bilden sich dunkle Flecke, welche mit den vom Erreger befallenen Stellen übereinstimmen.

Mit Hilfe dieser Methode ist es möglich, die Krankheit schon festzustellen, wenn der Erreger sich erst im Innern des Blattes entwickelt, also noch vor der Erzeugung der Hyphen, welche die Träger und dann die Konidien bilden werden. Diese Methode kann während des Studiums des biologischen Zyklus von *Cycloconium oleaginum* angewendet werden oder, um die Zeit festzustellen, in der die Behandlung mit eventuell „kurativen" Fungiziden möglich ist.

Citazioni bibliografiche

1. Castellani, E, 1952: Osservazioni e ricerche sull' „occhio di pavone" dell'olivo in Sardegna. I. La caduta anticipata delle foglie. Olearia **5—6**, 3—10.
2. — —, 1954: Osservazioni e ricerche sull' „occhio di pavone" dell'olivo in Sardegna. II. Infezione ed estivazione. Andamento della malattia in funzione delle variabili climatiche. Olearia **3—4**, 3—14.
3. Gambogi, P., 1958: Qualche notizia sull'occhio di pavone o Cicloconio dell'olivo (nota descrittiva). Agr. Ital. **LVIII (XIII** N. S.), 18—40.
4. Georghiou, G. P., 1957: Olive leaf spot disease in Cyprus and its control. World Crops **9**, 63—65.
5. Modugno Pettinari, C., 1955: Osservazioni preliminari sul parassitismo di *Cycloconium oleaginum* Cast. in oliveti del Lazio. Boll. Staz. Pat. Veg. Roma **13**, 41—57.
6. Papo, S., and G. Peleg, 1952: Trials in control of the olive leaf spot, caused by the fungus *Cycloconium oleaginum*. Bull. Minis. Agr. Israel **34**. Rec. in Rev. Appl. Mycol. **34**, 44, 1955.
7. Rambelli, A., 1958: Ricerche sull'occhio di pavone in oliveti della cellina romagnola. Progresso Agricolo **IV**, 511—519.
8. Wilson, E. E., and H. N. Miller, 1949: Olive leaf spot and its control with fungicides. Hilgardia **19**, 1—24.

Aus der Biologischen Bundesanstalt Braunschweig-Gliesmarode

Weitere Beiträge zur Kenntnis der Virusausbreitung in der Tabakpflanze

Von

E. Köhler

Mit 2 Abbildungen

Auf Grund von vergleichenden Versuchen über die Ausbreitung des X- und Y-Virus in der Tabakpflanze (Sorte Samsun) war ich zu der Vorstellung gelangt, daß das X zum Unterschied vom Y in den Leitbahnen (Phloëm) der älteren Pflanze einem spezifischen inaktivierenden Einfluß unterworfen ist. Diese Hypothese soll die Erscheinung erklären, daß das Y vor dem X einen Vorsprung im Erreichen der Sproßspitze bekommt, wenn man beide Viren getrennt oder gemeinsam auf ein unteres Blatt einer älteren Pflanze verimpft. Bei jungen Pflanzen sowie an den Oberteilen älterer Pflanzen wird diese Erscheinung nicht beobachtet (Köhler 1956). Die früher von mir mitgeteilten Versuchsergebnisse sprechen meines Erachtens eindeutig genug gegen die Annahme, daß man für die Hemmung ein Versagen des Transportmechanismus verantwortlich machen könnte. Die Transportwege sind für die verschiedenen Mosaikviren offenbar dieselben; Unterbrechungen und Blockierungen unspezifischer Art, etwa infolge von normalen Alterungsvorgängen im Leitgewebe, müßten sich in gleicher Weise auf beide Viren auswirken. Auch wenn eine spezifische, durch die Virusinfektion selbst veranlaßte derartige Hemmung im Spiel wäre, so müßte sie sich auf beide Viren auswirken, wenn diese gemeinsam verimpft werden. Da aber nachweislich immer nur das X, nie aber das Y gehemmt wird, scheidet auch diese Erklärungsmöglichkeit aus.

Im folgenden werden zwei Versuche am Samsuntabak mitgeteilt, die zur weiteren Klärung des Problems beitragen sollen. Im ersten wird die Frage geprüft, ob die alten Blätter etwa für das X-Virus weniger anfällig sind als die jungen, ob insbesondere das Virus sich in den alten langsamer vermehrt als in diesen. Im zweiten wird untersucht, ob das Y bei gemeinsamer Verimpfung mit dem X seinen Vorsprung im Erreichen der Sproßspitze auch dann erkennen läßt, wenn sein Anteil am Impfgemisch nur einen sehr niedrigen Betrag ausmacht.

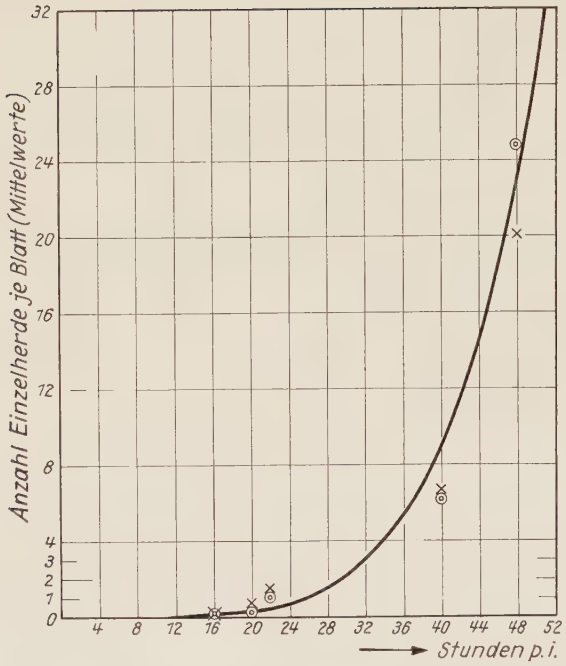


Abb. 1. Infektiosität der Säfte aus alten (×) und jungen (⊙) Blättern des Samsuntabaks als Funktion der seit der direkten Inokulation verstrichenen Zeit. X-Virus (Stamm M 23). Lineares Netz

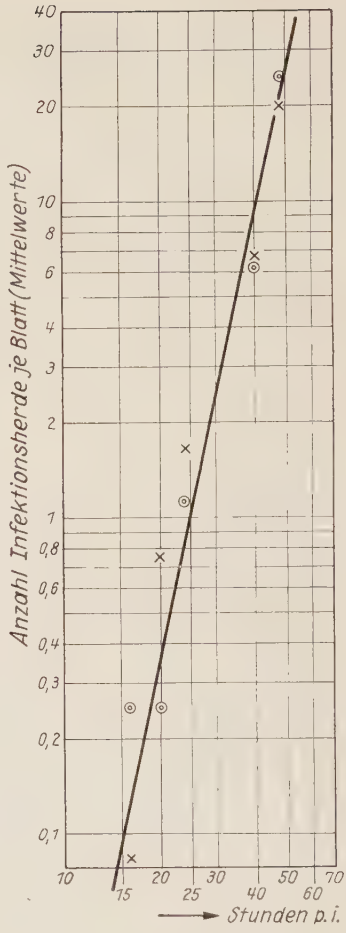


Abb. 2. Dasselbe wie in Abbildung 1. Doppeltlogarithmisches Netz

Erster Versuch

An 25 (unverzweigten) Pflanzen des Samsuntabaks von etwa 40 cm Höhe wurde am 13. Oktober um 16 Uhr je ein altes und ein junges Blatt mit dem X-Virus (Stamm M 23) unter Verwendung von Karborundpuder wie üblich durch Einreiben geimpft. Der Abstand der alten Blätter vom Erdniveau betrug im Durchschnitt 5,7 cm, der Abstand der jungen Blätter von der Vegetationsspitze rund 5 cm. Die zusammengenommenen Preßsäfte aus je fünf alten und fünf jungen Blättern wurden zu den nachgenannten Terminen (ohne Karborund) getrennt durch Aufreiben auf je zwölf Blätter von *Gomphrena globosa* getestet, nämlich:

Stunden post inf.:	16	20	24	40	48
Uhrzeiten:	8	12	16	8	16 Uhr.

Die Pflanzen standen im Gewächshause, die Temperatur schwankte während der Versuchszeit um 20 °C.

Das Ergebnis ist auf Abbildung 1 im linearen, auf Abbildung 2 im doppelt-logarithmischen Netz graphisch dargestellt. Man erkennt, daß die Werte zwischen „alt" und „jung" bis zu 40 Std. p. i. nur ganz unwesentlich differieren, aber auch die nach 48 Std. aufgetretene Differenz ist nicht signifikant. Man darf demnach als gesichert ansehen, daß sowohl hinsichtlich Vermehrungsgeschwindigkeit als auch Dauer der Eklipse zwischen alten und jungen Blättern praktisch Übereinstimmung besteht. Außerdem sagt das Ergebnis noch aus, daß sich die alten und jungen Blätter auch hinsichtlich der Neigung, sich Infektionen zuzuziehen, nicht unterscheiden. Die verspätete Ausbreitung des X-Virus bei Verimpfung auf alte Blätter kann also nicht aus einer verminderten „Anfälligkeit" dieser Blätter hergeleitet werden.

Zweiter Versuch

Gleichmäßig entwickelte Pflanzen des Samsuntabaks, die eine Höhe von rund 30 cm erreicht hatten, wurden an einem unteren Blatt mit Gemischen von X und Y eingerieben. Als Inokulate dienten frisch entnommene Preßsäfte von Blättern systemisch erkrankter Pflanzen, von denen anzunehmen war, daß sie Virus in etwa maximaler Konzentration enthielten. Mit den unverdünnten Säften wurden verschiedene Gemische hergestellt, wobei der Anteil des Y-Virus so variiert wurde, daß die Gemische 1, 5, 10, 20 und 25 % Y-Saft enthielten. Mit jedem dieser Gemische wurden am 25. August fünf Pflanzen (Serien A bis E) mit dem Glasspatel unter Verwendung von Karborundpuder infiziert. Am 3. September war an den Spitzenblättern von allen Pflanzen die für Y-Infektionen charakteristische Nervenaufhellung mehr oder minder deutlich zu erkennen, in allen Pflanzen hatte demnach das Y-Virus die Spitze erreicht. Nur bei einer Pflanze (Serie A mit 1 % Y) waren an der Spitze Mischsymptome erschienen; bei dieser einen Pflanze hatte also das X die Spitze zweifellos erreicht. Vom 3. September ab wurden jeweils im Abstand von einigen Tagen die Preßsäfte der Spitzenblätter einer Pflanze im Einzelherdverfahren getestet. Die Testung auf X wurde an je zwei Blättern von *Gomphrena globosa*, die auf Y an zwei Blattendfiedern des Kartoffelstammes A 6 vorgenommen. Die Testungen auf Y fielen ohne Ausnahme gut positiv aus, nicht so die Testungen auf X, über deren Ergebnis folgende Tabelle in zusammenfassender Form unterrichtet.

Daraus läßt sich folgern: Der erstmalig am neunten Tage p. i. festgestellte Vorsprung des Y vor dem X blieb bis zur vorletzten Testung (d. h. bis zum 16. Tage p. i.) etwa derselbe wie bei der ersten Testung. Erst bei der letzten Testung, also nach 21 Tagen, war der Vorsprung annähernd eingeholt. Ein sicherer Einfluß des jeweiligen Y-Anteils ist nicht nachzuweisen, d. h. also: das Y hielt seinen Vorsprung über einen längeren Zeitraum ganz unabhängig von der Konzentration, mit der es verimpft war.

Ergebnis der Einzelpflanzentestung
[+ = positiv für X[1]), — = negativ für X]

Serie	Prozent-Anteil des Y-Saftes am Impfgemisch	Tag der Testung					Gesamt
		3. IX	5. IX	8. IX	10. IX	15. IX	
A	1	+ (w)	—	—	+ (m)	+ (f)	3/5
B	5	—	—	+ (m)	—	+ (Sp)	2/5
C	10	—	—	—	—	+ (m)	1/5
D	20	—	—	+ (m)	—	—	1/5
E	50	—	+ (w)	—	—	+ (f)	2/5
Gesamt:		1/5	1/5	2/5	1/5	4/5	

[1]) In Klammern die Stärke des Befalls der Testblätter; dabei bedeutet:

w = weniger als 20
m = zwischen 20 und 80
f = mehr als 200
Sp = Spur

} Infektionsherde auf zwei *Gomphrena*-Blättern.

Wieder tritt das unterschiedliche Verhalten zwischen den beiden Viren deutlich hervor. Selbst bei sehr niedriger Konzentration setzt sich das Y gegen das X durch. Dabei ist mit Sicherheit anzunehmen, daß die Konzentration des Y-Virus in den angewendeten Impfgemischen sogar noch weit niedriger war als die entsprechenden Y-Saftanteile. Diese Annahme stützt sich auf die bekannte Tatsache, daß die Verdünnungsgrenze im Einzelherdtest für hochkonzentrierte Y-Preßsäfte etwa bei 1 : 10 000, für X-Säfte dagegen bei 1 : 1 000 000 anzunehmen ist. Auch durch einwandfreie serologische Bestimmungen wird sie gestützt. Das vorliegende Ergebnis schließt meines Erachtens die Annahme aus, daß die immer wieder beobachtete Hemmung auf einer allgemeinen Störung des Transportmechanismus beruhen könnte; denn eine solche Störung müßte sich mindestens andeutungsweise auf das in sehr geringer Konzentration verimpfte Y-Virus auswirken. Die von BEEMSTER (1958) gemachte Annahme, daß die von uns studierte Hemmung dieselbe Ursache haben könnte wie die von ihm studierte Altersresistenz bei der Kartoffelpflanze, halte ich für abwegig, vielmehr sprechen alle vorliegenden Befunde für unsere Hypothese, daß das X-Virus in den Transportbahnen einer spezifischen Inaktivierung unterliegt. Dies wird übrigens auch nahegelegt durch die mir nachträglich zur Kenntnis gelangte Beobachtung von POUND und HELMS (1955), daß nach der Verimpfung auf die unteren Blätter der Tabakpflanze auch das Tabak- und das Gurkenmosaikvirus die Sproßspitze früher erreichten als das X-Virus.

Die Annahme, daß die bei der Kartoffelpflanze nachgewiesene Altersresistenz auf einem ähnlichen Inaktivierungsmechanismus beruhen könnte, halte ich ebenso wie BEEMSTER nach allen vorliegenden Befunden für unwahrscheinlich.

Summary

Formerly (1956) the author has tried to analyse the fact, that X-Virus inoculated to old leaves of the tobacco plant (var. Samsun) is hampered in reaching the top leaves, contrasting with Y-Virus which does not show such a delay. For clearing up further this phenomenon two experiments were undertaken, the results of which are as follows:

1. Lag period and multiplication time of the X-Virus are the same both in old and young leaves when inoculated directly.

2. When mixed saps of X and Y were inoculated to old leaves the Y reached the top leaves in the same short time whether applied in parts of 1 or 50 percent.

This result does not conflict with the formerly suggested hypothesis that the delay of X may be caused by a specific inactivating factor effective in the conducting tissue (phloem) of the tobacco plant. The Y-Virus and apparently other viruses, as common tobacco and cucumber mosaics, are not subjected to such a factor. The phenomenon is explicable in terms of "mature resistance", but the mature resistance of the potato studied by Beemster obviously has not the same cause.

Literaturverzeichnis

Beemster, A. B. R., 1958: Transport van X-Virus in de aardappel (*Solanum tuberosum* L.) bij primaire infectie. T. Planteziekten **64**, 165—262.

Köhler, E., 1956: Über die Ausbreitung von Mosaikviren in der Tabakpflanze. I. Das Verhalten der Kartoffelviren X und Y. Phytopath. Z. **26**, 147—160.

Pound, G. S., and K. Helms, 1955: Effects of temperature on multiplication of Potato virus X in *Nicotiana* species. Phytopathology **45**, 493—499.

Biologische Zentralanstalt der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin, Institut für Phytopathologie, Aschersleben

Erdflohfraß und Infektion des Leins durch *Polyspora lini* Laff.

Von

G. M. Hoffmann und R. Fritzsche

Mit 6 Abbildungen

Zu den wichtigsten Krankheiten und Schädlingen des Leins (*Linum usitatissimum* L.) gehören unter mitteleuropäischen Verhältnissen der Stengelbruch, die Blatt- und Stengelbräune (*Polyspora lini* Laff.) und die Leinerdflöhe (*Longitarsus parvulus* Payk., *Aphthona euphorbiae* Schrk.). Sie verursachen von Jahr zu Jahr in wechselndem Ausmaß Ertragsverluste und Minderungen der Qualität, insbesondere der Faserausbeute und Faserfestigkeit des Erntegutes (Lafferty 1921, Flor 1936, Muskett und Colhoun 1947, Ratay 1954, Hoffmann 1954, Fritzsche 1958). Der Erreger des Stengelbruches, der Blatt- und Stengelbräune, *Polyspora lini* Laff. ist von Lafferty (1921) entdeckt und als bisher einzige Art einer neuen Gattung beschrieben worden. Seit dieser Zeit ist selten über diesen Parasiten gearbeitet worden, so daß heute noch wenig über seine Biologie bekannt ist. In eigenen Untersuchungen über *Polyspora lini* wurden ausgedehnte Infektionsversuche an Flachssämlingen durchgeführt, über deren Ergebnisse berichtet werden soll.

I. Infektionsversuche an unverletzten Pflanzen

1. Übersprühen mit einer Konidiensuspension

Leinsämlinge (Sorte „Löbauer Blau") wurden in mit Erde gefüllten Tonschalen (20 cm) oder Töpfen (8 cm) im Gewächshaus angezogen und sechs bis acht Tage nach dem Auflaufen, nachdem die Kotyledonen gut entwickelt waren, mit einer Konidiensuspension (etwa 5 Mill. Konidien/ml) übersprüht. *Polyspora lini* wurde hierzu auf Biomalzagar angezogen, worauf innerhalb von 24 Stunden bei 20 °C eine reichliche Sporulation erfolgte. Die Pflanzen wurden nach der Behandlung bis zu drei Tagen unter mit feuchtem Filterpapier ausgeschlagenen Glasglocken gehalten und verblieben dann bis Ende des Versuches (21 bis 28 Tage) unbedeckt im Ge-

wächshause bei 18 bis 22 °C. Trotz mehrfacher Wiederholung des Versuches konnte kein eindeutiger Infektionserfolg beobachtet werden. Die typischen Symptome der *Polyspora*-Blattflecke entwickelten sich nur sehr vereinzelt vom Blattrand ausgehend auf den Kotyledonen. Obwohl *Polyspora lini* als Erreger einer Blattfleckenkrankheit bekannt ist, konnte die Erkrankung durch Übersprühen mit einer Konidiensuspension nicht ausgelöst werden. Diese Beobachtungen deuten auf einen anderen Verlauf des Infektionsvorganges bei *Polyspora lini* hin als bei *Colletotrichum lini*, dem Erreger der Flachsanthraknose. Diese Krankheit ist mit der obenerwähnten Methode leicht auszulösen.

Die zunächst unbefriedigenden Infektionsversuche bestätigen die Befunde von White (1945), der bei Untersuchungen an Leinpflanzen in verschiedenen Entwicklungsstadien ebenfalls auf dem obigen Wege keine Infektionen durch *Polyspora lini* erhielt. Demgegenüber stehen Beobachtungen von Lafferty (1921) und Baylis (1941), die an abgeblühten Pflanzen nach Übersprühen mit einer Konidiensuspension einen starken Befall beobachteten.

2. Keimlingsinfektion in Erdagar

Um zu erreichen, daß der Erreger des Stengelbruches in engen Kontakt mit der sich entwickelnden Keimpflanze gelangt, wurde *Polyspora lini* auf Erdextraktagar angezogen (1 kg Gartenerde, 1000 ml Leitungswasser, 1 Std. bei 120 °C autoklaviert, filtriert; Zusatz von 20 g Glukose und 13 g Agar zu dem auf 1000 ml aufgefüllten Filtrat; pH — 6,8). Der Erreger entwickelte sich auf dem in 100-ml-Erlenmeyerkölbchen abgefüllten Nährboden gut. Nach 10 Tagen wurden äußerlich sterilisierte, vorgekeimte Leinsämlinge in diese Kölbchen übertragen und die Wurzelspitzen in den Agar leicht eingedrückt. Die Pflanzen standen unter ständiger Beleuchtung bei Zimmertemperatur und wurden nach Bedarf mit sterilem Leitungswasser gegossen. Nach 5 Tagen zeigten sich einzelne Verbräunungen an den Wurzelspitzen und am Hypokotyl einzelner Pflanzen. Verschiedentlich wiesen Randpartien an den Keimblättern leichte Braunfärbungen auf. Die typischen Symptome entwickelten sich jedoch auch nach längerer Versuchsdauer nicht, trotzdem der Parasit auf allen Teilen des Sämlings verbreitet nachgewiesen werden konnte. Die Versuche wurden nach 14 Tagen abgebrochen, da die Entwicklung der Pflanzen ungenügend blieb.

3. Keimlingsinfektionen auf sterilen Leinsamen

An Stelle des Erdagars wurde der Boden der Kulturgefäße mit Leinsamen bedeckt, die (nur wenig angefeuchtet) nach der Sterilisation mit *Polyspora lini* beimpft wurden. Auf diesem Medium entwickelte sich der Parasit sehr üppig und ging in wenigen Tagen zu starker Sporulation über. Die Flachssämlinge wurden, wie in Abschnitt 2 beschrieben, mit dem Erreger in Berührung gebracht. Bei einer Beobachtungszeit bis zu 14 Tagen traten leichte Braunverfärbungen nur sehr sporadisch auf, jedoch blieben die typischen Symptome aus.

4. Keimlingsinfektionen auf Filterpapier

Die Leinsamen wurden hierzu in Petrischalen auf feuchtes Filterpapier gebracht und kurz nach dem Austritt der Keimwurzeln in eintägigem Abstand mehrfach mit einer konzentrierten Sporensuspension übersprüht. Trotzdem die Keimschalen bei fünf verschiedenen konstanten Temperaturen in einem Bereich von 15 bis 30 °C gehalten wurden (Reihenthermostat), ließen sich nur sehr vereinzelt an Blatträndern Braunverfärbungen erkennen, die sich nicht zu den typischen Symptomen entwickelten. Der Parasit hielt sich mehrere Tage auf der Blattoberfläche lebensfähig, konnte nach 4 Tagen reisoliert werden, vermochte aber die Kotyledonen nicht zu befallen.

Die unter 1 bis 4 angeführten Versuche ließen die Vermutung aufkommen, daß *Polyspora lini* im Gegensatz zu *Colletotrichum lini* nicht in der Lage ist, die unverletzte Pflanze zu befallen. Aus diesem Grunde wurden die folgenden Versuche mit verletzten Sämlingen durchgeführt.

II. Infektionsversuche an verletzten Pflanzen

5. Keimlingsinfektionen nach Stichverletzung

Die Leinsämlinge wurden sechs Tage nach dem Auflaufen an den vollentwickelten Kotyledonen durch mehrere feine Nadelstiche verletzt. Unmittelbar danach erfolgte das Besprühen mit einer Konidiensuspension. Die Pflanzen wurden 24 Stunden bei 18 bis 22 °C im Gewächshause unter feuchtgehaltenen Glasglocken aufgestellt und blieben anschließend bis zur Befallsbonitur zehn Tage stehen.

6. Keimlingsinfektionen nach Schnittverletzungen

Die Pflanzen wurden durch Abschneiden von Blattrandpartien verletzt und wie bei dem vorangegangenen Versuch behandelt.

Im Gegensatz zu den unter 1 bis 4 besprochenen Versuchen wurde an den verletzten Pflanzen ein Infektionserfolg meist nach fünf Tagen sehr deutlich sichtbar. Von den Verletzungen ausgehend, war zunächst ein schwach grünlichgrau gefärbter, leicht eingesunkener, wenige Millimeter breiter Blattfleck sichtbar. Dieser entwickelte sich in wenigen Tagen, kreisförmig fortschreitend, zu erheblicher Größe und erstreckte sich teilweise auf das gesamte Keimblatt.

Das befallene Gewebe stirbt unter Braunfärbung ab und vertrocknet. Eine Chlorose geht der Zerstörung des Gewebes meist nicht voraus. Die befallenen Blattpartien sind an der Oberfläche runzlig, gefaltet und stark geschrumpft. Die Infektionen nehmen ausschließlich an Verletzungen des Blattgewebes ihren Anfang (Abb. 1 und 2). Die unbeschädigten Blattpartien und unverletzten Blätter bleiben befallsfrei. Die Ergebnisse dieser Versuche beweisen, daß *Polyspora lini* erst nach mechanischer Verletzung der Wirtspflanze fähig ist, in diese einzudringen, das Gewebe zu befallen und die typischen Symptome hervorzurufen.

Abb. 1. Verschiedene Stadien der Blattinfektionen durch *Polyspora lini* (Bild 1 bis 4); (5) Blätter unverletzt, infiziert; (6) Blätter verletzt, nicht infiziert

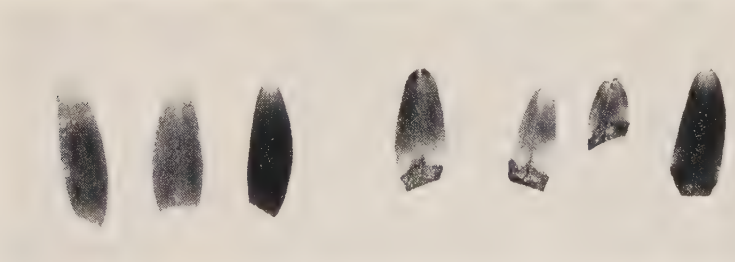


Abb. 2. Blattinfektionen durch *Polyspora lini* nach Schnittverletzung (links Kontrollblätter)

Eine Beschädigung der unter Feldbedingungen aufwachsenden Leinsämlinge erfolgt in erster Linie durch den Fraß der Leinerdflöhe. Sie erscheinen im Frühjahr auf den jungen Leinbeständen, sobald die Lufttemperatur etwa 15 °C erreicht hat. Die größte Flugaktivität zeigen sie bei Temperaturen über 20 °C (Fritzsche 1958). Sobald sie auf den Leinfeldern eingetroffen sind, beginnen sie mit dem Fraß an jungen Pflanzen, wobei sowohl die Keimblätter als auch der Vegetationspunkt und der Stengel befressen werden. Bei dem Blattfraß handelt es sich teils um Rand-, teils um Schabe- oder Loch-

fraß. Später werden auch die Primärblätter angegriffen. Mechanische Verletzungen an den Jungpflanzen, welche im wesentlichen durch die Pflegearbeiten entstehen können, treten gegenüber den Fraßbeschädigungen durch Erdflöhe in den Hintergrund.

7. Infektionsversuche an durch Erdflohfraß geschädigten Sämlingen

An Hand zahlreicher Blattproben aus Leinfeldern, die unter *Polyspora*-Befall litten, ließ sich eindeutig feststellen, daß der Parasit sehr häufig die durch Erdflohfraß entstandenen mechanischen Verletzungen als Ausgangspunkte für die Infektion benutzt (Abb. 3).

Abb. 3. *Polyspora*-kranke Laubblätter (natürliche Infektion)

Um diese Beobachtungen experimentell bestätigen zu können, wurden folgende Versuche durchgeführt:

Leinpflanzen (Sorte „Löbauer Blau") wurden zu je zehn Stück in Blumentöpfen angezogen und, nachdem sich die Keimblätter gut entwickelt hatten, dem Käferfraß ausgesetzt. Hierzu wurden auf die Blumentöpfe offene Glasglocken aufgesetzt und diese nach Einsetzen der Käfer mit Perlongaze verschlossen. Jeder Topf wurde mit etwa 40 bis 50 Tieren beschickt. Da die beiden Leinerdfloharten hinsichtlich des Keimpflanzenfraßes keine Unterschiede aufweisen, erfolgte für die vorliegenden Untersuchungen keine artenmäßige Trennung. Die Käfer wurden 24 Stunden auf den Pflanzen belassen, diese danach mit einer Konidiensuspension übersprüht, 24 Stunden unter einer feuchten Glasglocke gehalten und anschließend im Gewächshause bei 18 bis 22 °C aufgestellt. In Tabelle 1 werden die Ergebnisse von Infektionsversuchen an Pflanzen verschiedener Leinsorten nach unterschiedlicher Behandlung wiedergegeben. Daraus ist zu entnehmen, daß die Pflanzen ausschließlich nur dann von *Polyspora lini* infiziert wurden, wenn sie zuvor dem Erdflohfraß ausgesetzt waren. Dieses Zusammenspiel verschiedener Faktoren für die Entstehung der Krankheit wird ebenfalls aus Abbildung 4 ersichtlich.

Die Intensität des Erdflohfraßes wechselt im Laufe der Vegetationsperiode. Sie ist abhängig von dem zahlenmäßigen Auftreten der Käfer auf dem Leinfeld und den Witterungsbedingungen. Wie in anderen Untersuchungen festgestellt werden konnte (FRITZSCHE 1958) findet ein Abflug der Käfer nach der Besiedlung der Leinfläche nur in ganz geringem Umfange statt. Daher erfolgt eine Beeinflussung der Fraßintensität durch die auf dem Felde vorhandene Käferzahl nur in der Zeit des Zufluges aus den Winterlagern

und während des Absterbens der Altkäfer im Sommer. Einen wesentlichen Einfluß auf die Fraßintensität der Käfer besitzen dagegen die Witterungsbedingungen. Bei Temperaturen unter 11 °C sind die Tiere weder flug- noch sprungaktiv. Sie sitzen ruhig am Boden unter Pflanzenteilen oder Bodenritzen. Fraßtätigkeit konnte unter diesen Bedingungen nicht beobachtet werden. Auch Regenfälle verhindern den Käferfraß. In derartigen, ungünstigen Witterungsperioden verbleiben die Käfer oft tagelang in ihren Verstecken. Auch an besonders warmen und trockenen Tagen, vor allem während der Mittagsstunden, wenn die Lufttemperaturen über 25 bis 30 °C ansteigen und die relative Luftfeuchtigkeit weniger als 40 % beträgt, unterbleibt die Fraßtätigkeit. Bei normalem Witterungsablauf während der Vegetationsperiode kann mit einer über die ganze Vegetationszeit verteilten Fraßtätigkeit der Leinerdflöhe gerechnet werden, so daß stets an den neu zuwachsenden Pflanzenteilen die Eintrittspforten für eine *Polyspora*-Infektion geschaffen werden.

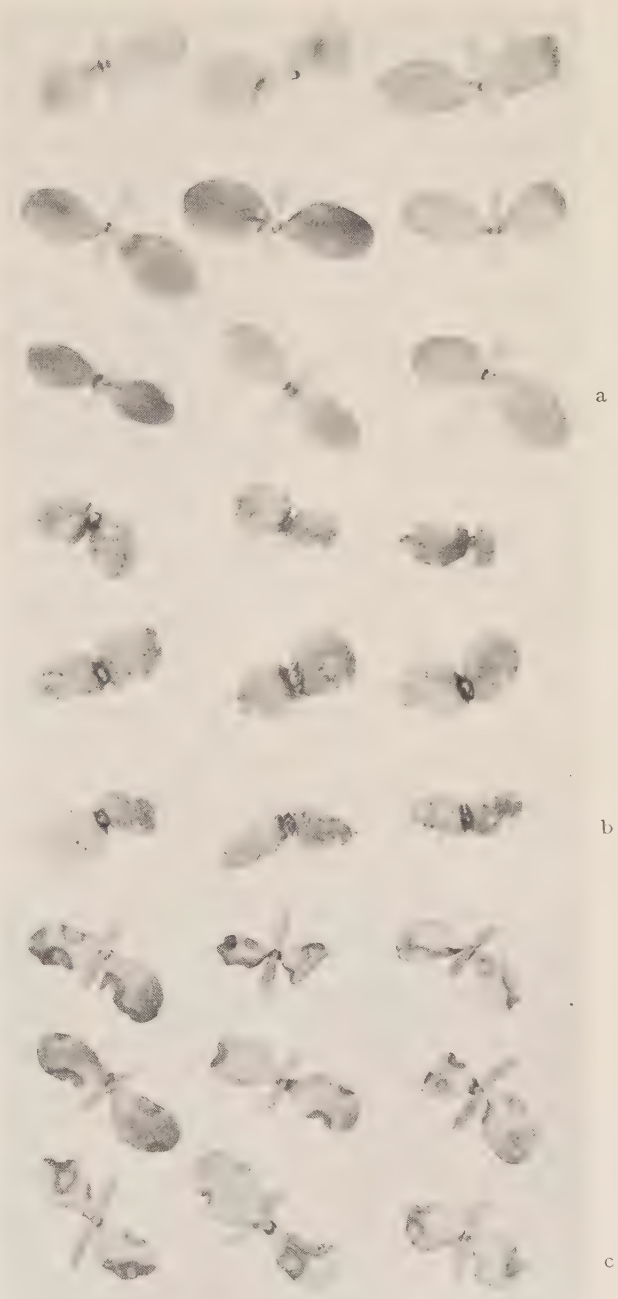


Abb. 4. *Polyspora*-Infektion nach Käferfraß. a) Unverletzte Blätter, infiziert mit *Polyspora lini*; b) durch Erdflohfraß beschädigte Blätter; c) von Erdflöhen befressene, mit *Polyspora lini* infizierte Blätter

Tabelle 1

Infektionsergebnisse mit *Polyspora lini*

Sorte	Behandlung	Gesamtzahl der Pflanzen	Pflanzen	
			erkrankt	gesund
Löbauer Blau	Erdflohfraß + Infektion	34	34	—
	unverletzt + Infektion	26	—	26
	Erdflohfraß, Kontrolle	14	—	14
	unverletzt, Kontrolle	25	—	25
Fasertreu	Erdflohfraß + Infektion	64	63	1
	unverletzt + Infektion	32	—	32
	Erdflohfraß, Kontrolle	14	—	14
	unverletzt, Kontrolle	27	—	27
Bernburger Stamm 112	Erdflohfraß + Infektion	75	73	2
	unverletzt + Infektion	38	—	38
	Erdflohfraß, Kontrolle	16	—	16
	unverletzt, Kontrolle	29	—	29

Um zu erfahren, ob die durch den Käferfraß geschaffene Befallsdisposition des Flachses für *Polyspora lini* längere Zeit nach der Fraßtätigkeit anhält oder nach wenigen Tagen erlischt, wurde der folgende Versuch durchgeführt:

8. Infektionsversuch an Leinsämlingen in verschiedenen Zeitabständen nach dem Käferfraß

Tabelle 2

Infektionsversuche mit *Polyspora lini* in bestimmten Zeitabständen nach dem Käferfraß

Zeitabstand nach Käferfraß	Gesamtzahl der Pflanzen	Pflanzen	
		krank	gesund
0 Tage	37	37	—
Kontrolle	8	1	7
1 Tag	32	32	—
Kontrolle	12	—	12
2 Tage	35	35	—
Kontrolle	13	3	10
3 Tage	20	19	1
Kontrolle	8	2	6
4 Tage	28	28	—
Kontrolle	9	1	8
5 Tage	25	23	2
Kontrolle	10	2	8
6 Tage	35	33	2
Kontrolle	10	1	9
7 Tage	36	29	7
Kontrolle	15	—	15

Die Flachssämlinge (Sorte („Löbauer Blau") wurden wie im vorangegangenen Versuch angezogen und dem Käferfraß ausgesetzt. Daran anschließend erfolgten an diesen Pflanzen Infektionsversuche in Abständen bis zu sieben Tagen, deren Ergebnisse in Tabelle 2 wiedergegeben werden.

Die Befallsdispositionen der durch Erdflohfraß geschädigten Pflanzen blieb noch sieben Tage nach dem Käferfraß bestehen. Die Pflanzen sind nicht in der Lage, die teilweise durch schwere Verletzungen entstandenen Eintrittspforten für den Parasiten in dieser Zeit durch Wundkorkbildung zu schließen. Die Pflanzen bleiben dadurch längere Zeit für den Parasiten empfänglich.

In diesem Zusammenhang sind die im Rahmen anderer Untersuchungen durchgeführten Keimungsversuche mit *Polyspora lini* erwähnenswert. Der Keimungsverlauf der Vermehrungsorgane parasitischer Pilze gibt vielfach erste Hinweise auf die Pathogenese. *Polyspora lini* war insofern ein interessantes Untersuchungsobjekt, als die Infektionen nur nach vorangegangener Verletzung zum Haften kamen, so daß die Frage zu klären war, wie die Konidienkeimung des Parasiten verläuft und von welchen Faktoren sie abhängig ist.

III. Untersuchungen zur Konidienkeimung von *Polyspora lini*

Die Konidienkeimung von *Polyspora lini* wurde in folgender Weise untersucht. Auf das Deckglas einer BÖTTCHERschen Kammer wurden mit einer feinen Glaskanüle 20 Tröpfchen einer schwachen Konidiensuspension (24 Stunden alte Kultur) aufgetragen, so daß sich in jedem Tropfen durchschnittlich zehn Konidien befanden. Als Suspensionsmittel wurden Aqua dest., Leitungswasser, Malzlösung (3 %) und zwei Leinpflanzenauszüge benutzt.

Pflanzenextrakt kalt: Die Pflanzen wurden in kaltem Aqua dest. zerrieben, der Brei blieb vier Stunden bei Zimmertemperatur stehen, anschließend wurde er filtriert und die Lösung im Verhältnis 1 : 1 zu einer wäßrigen Konidiensuspension zugegeben.

Pflanzenextrakt heiß: Die Pflanzen wurden mit Aqua dest. zum Kochen gebracht, vier Stunden stehengelassen, die Lösung filtriert und wie oben mit einer Konidiensuspension versetzt.

Die Keimungstemperatur betrug 18 °C. Die Auszählung der gekeimten Konidien erfolgte nach 16 Stunden. Die Ergebnisse eines mehrfach wiederholten Versuches sind in Tabelle 3 zusammengefaßt.

Tabelle 3

Konidienkeimung von *Polyspora lini* in verschiedenen Medien

Suspensionsmittel	Konidienzahl	Keimprozente
Aqua dest.	1523	3,2
Leitungswasser	1004	0,2
Malzlösung (3 %)	1784	85,5
Pflanzenextrakt kalt ..	329	53,3
Pflanzenextrakt heiß ..	239	58,6

Nach diesen Beobachtungen vermag *Polyspora lini*, in Leitungswasser und in Aqua dest. nur in sehr geringem Ausmaße zu keimen. Dieses Ergebnis war insofern überraschend, als sich damit *Polyspora lini* wie bei den Infektionsversuchen wiederum wesentlich anders verhielt als der Erreger der Flachsanthraknose, *Colletotrichum lini*, welcher zu einem hohen Prozentsatz in beiden Medien zur Keimung kommt. Die Untersuchungen wurden ausgedehnt und die Konidienkeimung in Malzlösung und Aqua dest. in einem Temperaturbereich von 18 bis 35 ° C beobachtet. In Abbildung 5 sind die Ergebnisse graphisch wiedergegeben, die eine volle Bestätigung der vorangegangenen Befunde darstellen. Diese Ergebnisse lassen vermuten, daß die Vermehrungsorgane des Erregers zur Keimung einer Stimulation durch bestimmte, wahrscheinlich unspezifische Stoffe bedürfen. Das Verhalten von *Polyspora lini* bei den

Keimungsversuchen gab Veranlassung zu der Frage, in welchem Ausmaß die Konidien des Parasiten keimen, wenn sie auf unverletzte bzw. verletzte Blätter der Wirtspflanze gelangen. Zahlreiche mikroskopische Kontrollen an Blattepidermisabrissen nach erfolgter Behandlung mit einer Konidiensuspension ergaben, daß *Polyspora lini* auf dem unverletzten Blatt nur geringe Neigung zur Keimung zeigt, die Konidien rasch zur Sporulation (Knospung) übergehen und sich vielfach zu Chlamydosporen umbilden.

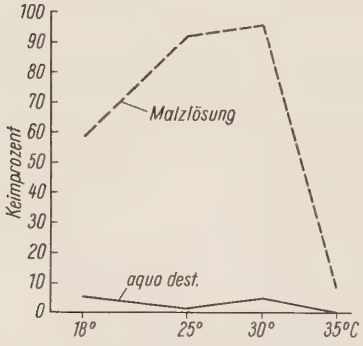


Abb. 5. Die Konidienkeimung von *Polyspora lini* in Abhängigkeit von der Temperatur nach 16 Std.

Eine quantitative Ermittlung der Konidienkeimung konnte auf folgendem Wege erreicht werden. Gut entwickelte Kotyledonen von ausgewählten, unbeschädigten Pflanzen wurden vom Sproß abgetrennt, die Schnittfläche mit Paraffin verschlossen und so zwischen Deckglas und Objektträger gebracht, daß die Schnittstelle außerhalb des überdeckten Raumes lag. Der Zwischenraum wurde mit einer schwachen Konidiensuspension in Aqua dest. gefüllt. Bei einem Teil der Keimblätter wurde die Blattspitze zuvor abgeschnitten, so daß der austretende Zellsaft in die Konidiensuspension diffundierte. Die Objektträger verblieben in feuchten Kammern bei 20 °C. Die Ermittlung der Keimprozente der Konidiensuspension erfolgte nach 16 Stunden. Die Ergebnisse eines mehrfach wiederholten Versuches sind in Tabelle 4 wiedergegeben und zeigen, daß die Keimungsrate am Rande der Blattverletzungen wesentlich höher war als an den unverletzten Gewebeteilen.

Bei der Durchsicht der Präparate fiel auf, daß die Konidienkeimung in einiger Entfernung von dem verletzten Blattgewebe stark zurückging und fast erlosch. Daraufhin wurden Auszählungen der gekeimten Konidien und die Ermittlung der Keimprozente in bestimmten Abständen von den Blattverletzungen vorgenommen. Dabei wurde die Kei-

Tabelle 4

Konidienkeimung von *Polyspora lini* an verletzten und unverletzten Blatträndern

Blattrand	Konidienzahl	Keimprozente
unverletzt	1927	0,46
verletzt	1638	14,10

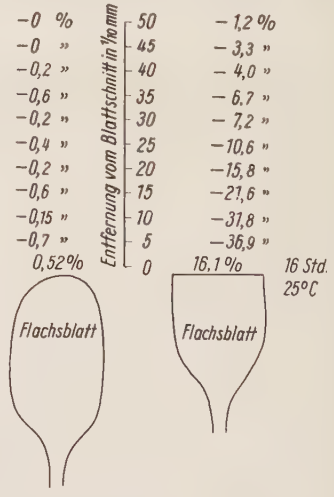


Abb. 6. Die Sporenkeimung von *Polyspora lini* an verletzten und unverletzten Kotyledonen des Leins

mungsrate innerhalb eines mikroskopischen Gesichtsfeldes (150fache Vergrößerung) bestimmt und die Entfernung vom Blattrand mit Hilfe des Nonius am Kreuztisch des Mikroskopes gemessen. Die Ergebnisse eines Versuches sind in Abbildung 6 wiedergegeben und zeigen, daß die Keimung der Konidien im Abstand von 0,5 mm vom verletzten Blattrand am stärksten war und mit zunehmender Entfernung laufend abnahm. Demgegenüber blieb die Konidienkeimung an unverletzten Blättern überall gleichmäßig gering. Die Untersuchungen zeigen, daß durch den austretenden Zellsaft eine deutliche Stimulation der Konidienkeimung erfolgt. Dadurch wird der Parasit angeregt, in das verletzte Gewebe einzudringen. Die Wirtspflanze begünstigt also den Befall durch den Parasiten.

IV. Diskussion

Die Untersuchungen haben ergeben, daß *Polyspora lini* als Erreger einer Blattfleckenkrankheit, des Stengelbruches und der Stengelbräune des Leins nicht fähig ist, die unverletzte Pflanze zu befallen. Der Erreger ist damit als ein Wundparasit zu betrachten. Dieser Befund erklärt das Ergebnis zahlreicher eigener Infektionsversuche sowie die Untersuchungen von White (1945) an unverletzten Pflanzen. Wenn Lafferty (1921) und Baylis (1941) einen Infektionserfolg an Pflanzen nach der Blüte erzielten, so widerspricht dieses Ergebnis unseren Befunden insofern nicht, als Pflanzen über einen solchen Zeitraum nicht unverletzt kultiviert werden können. Feldbeobachtungen während der gesamten Vegetationsperiode haben gezeigt, daß das Krankheitsbild nach der Blühperiode von den in früheren Entwicklungsstadien auftretenden Symptomen nicht so weit abweicht, daß man auf einen anderen Infektionsvorgang schließen könnte. Anzeichen für eine Stadienresistenz des Flachses gegen *Polyspora lini* liegen nicht vor.

Mechanische Verletzungen sind nicht nur Eintrittspforten für den Erreger, sondern der austretende Zellsaft stimuliert die Keimung der Konidien des Parasiten. Im Gegensatz zu *Colletotrichum lini* vermag *Polyspora lini* nicht, in Aqua dest. und Leitungswasser zu keimen. Seine Neigung zur Keimung auf intakten Leinblättern bleibt ebenfalls gering. Der Auslösung des Keimungsvorganges geht eine Stimulation durch bisher noch nicht untersuchte, wahrscheinlich aber unspezifische Stoffe voraus, die sich im Pflanzensaft und in Biomalzlösung befinden.

Dem unterschiedlichen Verlauf des Infektionsvorganges entspricht auch das makroskopische Bild der durch *Polyspora lini* und *Colletotrichum lini* hervorgerufenen Blattflecke. Die zahlreichen, oft dicht nebeneinander liegenden, über die ganze Blattspreite verteilten, punktartigen Blattflecke, wie sie *Colletotrichum lini* hervorruft, deuten auf die Fähigkeit des Parasiten hin, an jeder Stelle des Blattgewebes eindringen zu können. Demgegenüber findet man die von *Polyspora lini* erzeugten Blattflecke nur in geringer Zahl auf den Blättern, der Einzelfleck kann sich zu beträchtlicher Größe auswachsen und beginnt an einem bestimmten durch Verletzungen geschädigten Ort.

Der größte Teil der mechanischen Verletzungen der Flachspflanzen im Feldbestand geht auf die Fraßtätigkeit der Erdflöhe zurück. Die Schädlinge

sind vom Zeitpunkt des Auflaufens der Sämlinge bis zur Reife der Pflanzen in den Beständen zu finden. *Polyspora lini* wird daher, sofern die Witterungsbedingungen für eine Infektion günstig sind, stets zahlreiche Eintrittspforten vorfinden, so daß die allgemeine Verbreitung der Krankheit erklärlich wird. Zu untersuchen bleibt noch die Frage, inwieweit andere, leichtere Verletzungen von *Polyspora lini* für die Infektion genutzt werden können. Die Infektionen nach Stichverletzungen haben erwiesen, daß der Erreger nicht an den Erdflohfraß allein gebunden ist. Es besteht die Möglichkeit, daß die Saugstellen von Blasenfüßen, Beschädigungen durch Witterungsunbilden und die Pflegearbeiten den *Polyspora*-Befall begünstigen.

Durch den Erdflohfraß wird eine Befallsdisposition geschaffen, die länger als sieben Tage erhalten bleibt. Dadurch erklärt sich ein Fortschreiten der *Polyspora*-Infektionen, obgleich ungünstige Witterungsbedingungen für die Fraßtätigkeit der Erdflöhe herrschen.

In Mitteldeutschland bleiben die Leinbestände oft bis zur Blüte gesund und werden dann schlagartig und epidemisch durch *Polyspora lini* befallen. Diese Beobachtung könnte man darauf zurückführen, daß erst in diesem Zeitpunkt günstige Witterungsbedingungen für eine Infektion vorgelegen haben. Diese Erklärung verliert jedoch an Bedeutung, wenn man an das Auftreten der Jungkäfergeneration der Leinerdflöhe denkt. In normalen Jahren erreichen Leinbestände, welche Mitte April bis Anfang Mai angesät wurden, Ende Juni bis Anfang Juli die Hauptblüte. Die Jungkäfer der Erdflöhe erscheinen oft unvermittelt in größerer Zahl kurz nach diesem Blühtermin und verursachen starke Verletzungen an den Pflanzen (Ernährungsfraß), so daß dem Erreger an Laubblättern und Stengeln Eintrittspforten zur Verfügung stehen. Nach LAFFERTY, RHYNEHART und PETHYBRIDGE (1922) ist es sehr wahrscheinlich, daß die Käfer bei der sich über einen längeren Zeitraum erstreckenden Fraßtätigkeit die in großen Mengen auf den befallenen Blättern gebildeten Konidien von *Polyspora lini* verbreiten und an die geschaffenen Wundstellen transportieren. Das epidemische Auftreten von *Polyspora lini* im Hochsommer läßt sich nach unseren bisherigen Kenntnissen am besten in dieser Weise erklären. Für die chemische Bekämpfung von *Polyspora lini* ergeben sich aus den vorliegenden Untersuchungen neue Aspekte. Sie hat sich in erster Linie gegen die Leinerdflöhe zu richten, wobei beide Käfergenerationen von großer Bedeutung sind.

Bei vergleichendem Anbau verschiedener Leinsorten ist mehrfach festgestellt worden, daß sich einzelne Sorten wesentlich widerstandsfähiger gegenüber *Polyspora lini* erweisen als andere. Es wird Aufgabe weiterer Untersuchungen sein, besonders den sich aus diesem Befund ergebenden Fragenkomplex zu untersuchen.

Zusammenfassung

1. Zahlreiche Infektionsversuche an unverletzten und mechanisch verletzten Leinpflanzen haben ergeben, daß der Erreger des Stengelbruches, der Blatt- und Stengelbräune, *Polyspora lini* Laff., als Wundparasit zu betrachten ist. Er vermag die unverletzte Pflanze nicht zu befallen.

2. Mechanische Verletzungen des Flachses unter Feldbedingungen gehen in erster Linie auf die Fraßtätigkeit der beiden in Europa heimischen Leinerdflöhe *Longitarsus parvulus* Payk. und *Aphthona euphorbiae* Schrk. zurück.

3. Infektionen mit *Polyspora lini* durch Übersprühen von Keimpflanzen mit einer Konidiensuspension nach 24stündigem Käferfraß kamen in hohem Grade zum Haften und führten zu den typischen Blattfleckensymptomen.

4. Die durch den Erdflohfraß hervorgerufene Befallsdisposition der Pflanzen bleibt länger als sieben Tage bestehen.

5. Die Verletzungen an den Pflanzen sind für den Erreger nicht nur Eintrittspforten, sondern der austretende Zellsaft stimuliert die Keimung der Vermehrungsorgane des Parasiten. *Polyspora lini* keimt im Gegensatz zu *Colletotrichum lini* nicht oder nur unbefriedigend in Aqua dest. und Leitungswasser. Dagegen erfolgt eine starke Keimung der Konidien in Leinpflanzenauszügen und in einer Biomalzlösung (3 %). Am Rande unverletzter Leinblätter blieb die Keimungsrate gering, demgegenüber war sie deutlich erhöht am Rande verletzten Blattgewebes. Die Stimulation der Keimung nahm mit steigender Entfernung von dem Ort der Verletzung ab.

6. Die Ergebnisse werden im Zusammenhang mit ökologischen Fragen über das Auftreten der Leinerdflöhe und *Polyspora lini* diskutiert.

Summary

1. Numerous infection experiments on uninjured and on mechanically wounded flax plants showed that the pathogen of stalk breakage, leaf browning and stalk browning, *Polyspora lini* Laff., is to be regared as a wound parasite. It is not capable of attacking the uninjured plant.

2. Mechanical injuries of flax under field conditions are caused in the first place by feeding of the two species of flax beetle indigenous in Europe, *Longitarsus parvulus* Payk. and *Aphthona euphorbiae* Schrk.

3. Infection with *Polyspora lini* by spraying the seedlings with a suspension of conidia 24 hours after feeding of the beetles gave a high percentage of attack and led to typical leaf-spot symptoms.

4. The disposition towards infection due to beetle feeding is retained by the plants for over 7 days.

5. The wounding of the plant not only provides the pathogen with a means of entry but the exuded cell sap acts as a stimulus to germination of the reproductive organs of the parasite. *Polyspora lini* unlike *Colletotrichum lini*, gives no germination or germinates unsatisfactorily in distilled water or tap water. On the other hand rapid germination of the conidia occurs in an extract of flax plants and is a biomalt solution (3 %). The germination rate remained low on the margins of uninjured flax leaves but was markedly increased at the margins of wounded leaf tissues. The stimulation of germination diminished in proportion to the distance from the wound site.

6. The results are discussed in connexion with ecological questions concerning the incidence of the flax beetle and *Polyspora lini*.

Literaturverzeichnis

Baylis, G. T. S., 1941: Stem-break and browning (*Polyspora lini*) of flax in New Zealand. New Zealand j. sci. techn. A **23**, 1—8.

Flor, H. H., 1936: Browning disease of flax in the United States. Phytopathology **26**, 93—94.

Fritzsche, R., 1958: Beiträge zur Biologie, Ökologie und Bekämpfung der Leinerdflöhe. Nachr.Bl. Dtsch. Pflanzenschutzd. Berlin, N. F. **12**, 121—136.

Hoffmann, G. M., 1954: Beobachtungen über die Bräune und den Stengelbruch des Leins (*Polyspora lini* Laff.). Nachr.Bl. Dtsch. Pflanzenschutzd. Berlin, N. F. **8**, 41—45.

Lafferty, H. A., 1921: The "browning" and "stem-break" disease of cultivated flax caused by *Polyspora lini n. gen. et sp.* Sc. proc. roy. Dublin soc. **16**, 248—274.

— —, J. G. Rhynehart and G. H. Pethybridge, 1922: Investigations on flax diseases. J. dep. agric. et techn. instr. Dublin **22**, 103—120.

Muskett, A. E., and J. Colhoun, 1947: The diseases of the flax plant. Belfast.

Rathay, K., 1954: Skudci a choroby pradných rostlin. Praha.

White, N. H., 1945: The relation of *Polyspora lini* Lafferty and *Pullularia pullulans* (de Bary) Bertch. to flax browning. J. coun. sci. ind. res. Austr. **18**, 141—149.

Aus dem Institut für spezielle Botanik
der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich

Über drei *Guignardia*-Arten und ihre Nebenfruchtformen

Von

E. Müller

Mit einer Abbildung

Die Imperfektengattung *Kabatia* Bubák (Bubák und Kabát 1904) mit dem Typhus *Kabatia lonicerae* (Harkn.) v. Höhn. (auch beschrieben als *Kabatia latemarensis* Bub.) umfaßt bis heute zwei, auf *Lonicera*-Arten parasitierende Formen; außerdem sind zwei weitere auf *Silene* bzw. *Fragaria* vorkommende Arten beschrieben worden, nämlich *Kabatia silenes* Lobik und *Kabatia fragariae* Solheim. Nächst verwandt mit der Gattung *Kabatia*, welche zweizellige Konidien hat, ist *Colletotrichella* v. Höhn., deren Typusart *Colletotrichella periclymeni* (Desm.) v. Höhn. ebenfalls auf lebenden Blättern von *Lonicera*-Arten parasitiert, sich aber durch nur einzellige Konidien auszeichnet. In früher beschriebenen Versuchen (Müller 1953, 1957) konnte gezeigt werden, daß sowohl *Kabatia lonicerae* wie auch *Colletotrichella periclymeni* in den Entwicklungskreis von *Guignardia*-Arten gehören (*Guignardia latemarensis* E. Müller und *Guignardia minuta* v. Arx et Müller).

Angeregt durch diese Ergebnisse, habe ich in letzter Zeit wiederholt Material von *Lonicera*-Arten gesammelt und zwar — wenn immer möglich — sowohl lebende Blätter mit Blattflecken, wie auch überwinterte Blätter, welche unter den betreffenden Sträuchern auf dem Boden lagen. So war es möglich, von zwei weiteren *Kabatia*-Arten (von denen die eine bis heute unbekannt war) die dazu gehörende Hauptfruchtform zu finden.

In beiden Fällen stimmt die gefundene Sexualform in allen Teilen mit dem als *Guignardia latemarensis* E. Müller beschriebenen Pilz überein. Trotzdem scheint es aber angezeigt, die gefundenen Pilze als eigene Arten zu betrachten, da sie unterscheidbare Nebenfruchtformen besitzen und wahrscheinlich auch streng auf bestimmte Wirte spezialisiert sind. Diese *Lonicera* besiedelnden *Guignardia*-Arten bilden aber innerhalb der Gattung eine natürliche Gruppe.

1. *Guignardia latemarensis* E. Müller
Sydowia 7, 330 (1953)

Matrix: Für die Hauptfruchtform nachgewiesen: *Lonicera coerulea* L.
für die Nebenfruchtform nachgewiesen: *Lonicera coerulea* L., *Lonicera canadensis* Marsh., *Lonicera conjugalis* Kellogg

Verbreitung: Alpen, nördliches Nordamerika

Nebenfruchtform: *Kabatia* Bub. beschrieben als:

Marsonia lonicerae Harkn. — F. Calif. p. 11 (1884)
Gloeosporium lonicerae (Harkn.) E. et E. — J. of Mycol. **1**, 116 (1886)
Kabatia lonicerae (Harkn.) v. Höhn. — Mitt. Bot. Inst. Techn. Hochschule Wien, **4**, 100 (1927)
Kabatia latemarensis Bub. — Österr. Bot. Z. **54**, 28 (1904)
Leptothyrium periclymeni Desm. var. *americanum* E. et E. — J. of Mycol. **6**, 116 (1891)

Eine eigene Darstellung dieser Formen nebst Abbildungen wurde schon früher gegeben (MÜLLER 1953); eine nochmalige Beschreibung erübrigt sich deshalb. Merkmale, in denen sich der Pilz von den beiden weiteren, hier näher beschriebenen Arten unterscheidet, werden bei deren Diagnosen erwähnt.

2. *Guignardia mirabilis* E. Müller nov. spec.

Matrix: Für die Hauptfruchtform nachgewiesen: *Lonicera nigra* L.
für die Nebenfruchtform nachgewiesen: *Lonicera nigra* L., *Lonicera alpigena* L. (vgl. BUBÁK und KABÁT, 1912)

Verbreitung: Wahrscheinlich im ganzen Verbreitungsgebiet des Wirtes, sicher in den Alpen und im Hohen Gesenke

Nebenfruchtform: *Kabatia* Bub. beschrieben als:
Kabatia mirabilis Bub. — Österr. Bot. Z. **55**, 241 (1905)

Status ascophorus: Perithecia dispersa, globosa, 100—180 μ diam. in vertice saepe applanata et in eius centro tuberculo praedita. Pariete perithecium 10—20 μ crassus, extus cellulis regulariter angulatis, 10—15 μ crassis, brunneis, intus cellulis compressis, subhyalinis composito. Asci non numerosi, clavati, 60—75 $\fallingdotseq$ 14—17 μ 8-spori. Sporae biseriatae, ellipsoideae, vel ovatae, hyalinae, 12,5—15 $\fallingdotseq$ 6,5—7,5 μ.

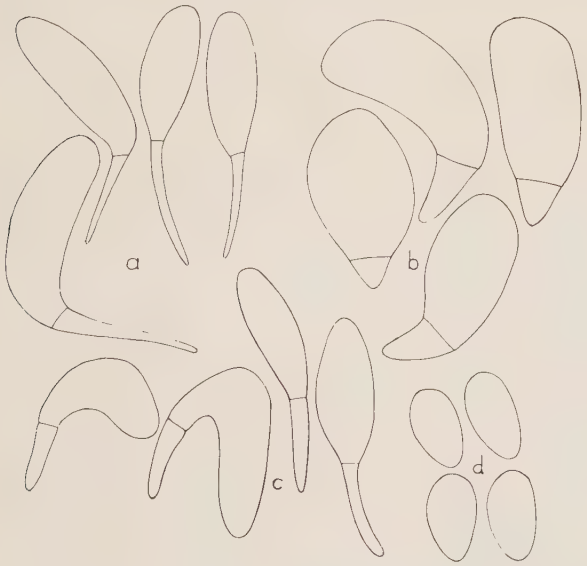
Hab. in foliis emortuis *Lonicerae nigrae* L. — Gallia, Bregantia, Val Queyras, Echalpe, 28. 6. 1958.

Status conidiophorus: vide BUBÁK et KABÁT (1905).

Die mehr oder weniger kugeligen, 100—180 μ großen, oben meist etwas abgeflachten, am Scheitel mit einem zentralen Höcker versehenen Fruchtkörper sind zerstreut oder bilden dicht gedrängte Herden von etwa 1 cm Durchmesser. Anfangs sind sie geschlossen, später bröckeln die oberen Deckenpartien aus und geben eine ziemlich weite, unregelmäßig rundliche Mündung frei. Die Fruchtkörperwand ist 10—20 μ dick und besteht aus etwa 10 μ großen, polyedrischen, ziemlich derbwandigen, dunkelbraunen Zellen, an die sich nach innen eine Schicht aus ziemlich stark zusammengepreßten Zellen anschließt. Die wenig zahlreichen, breit keuligen oder ellipsoidischen, derb- und doppelwandigen Asci stehen mehr oder weniger parallel. Sie sind 60—75 $\times$

14—17 μ groß und nur von wenigen zelligen Resten des paraphysoiden Gewebes umgeben. Sie enthalten je acht zweireihig gelagerte, breit ellipsoidische oder eiförmige, ungleichseitige, hyaline, von einem körnigen Plasma erfüllte, einzellige, 12,5—15 × 6,5—7,5 μ große Sporen.

Der Hauptfruchtform, welche erst auf den abgestorbenen, überwinterten Blättern zu finden ist, geht auf den lebenden Blättern eine parasitische Nebenfruchtform voraus. In zunächst hellgrünen, später gelbbräunlichen, unregelmäßig, aber durch einen deutlichen dunkleren Saum gegen das lebende Blattgewebe scharf abgegrenzten, bis 5 mm großen Flecken bilden sich blattoberseits deren Fruchtgehäuse. Diese werden subkutikulär angelegt, sind in Aufsicht rundlich, mit einem Durchmesser von 150—200 μ, und seitlich und oben nur aus einem Kranz von dicht parallel nebeneinander liegenden, hellgelben, 4—5 μ dicken, zelligen, oben frei endenden Hyphen gebildet (vgl. Abbildung bei Müller, 1953 und bei von Arx, 1957 für *Colletotrichum periclymeni*). Die Basalschicht besteht aus rundlichen, hyalinen, zwei bis drei Lagen tief angeordneten, 5—8 μ großen Zellen, aus denen heraus an kurz höckerigen Zellen die 24—55 ≒ 7—10 μ großen, keuligen, oft stark gekrümmten, in eine keulige oder ellipsoidische Oberzelle und in eine sich gegen das Ende oft noch verjüngende, schmale Stielzelle geteilte, hyaline, von einem körnigen Plasma erfüllte Konidien abgeschnürt werden. Die Konidienzellen sind in ihrer Länge ungefähr gleich.



a) Konidien von *Guignardia mirabilis*,

b) *Guignardia himalayensis*,

c) *Guignardia latemarensis*,

d) Ascosporen von *Guignardia latemarensis* (diese sind repräsentativ auch für *Guignardia mirabilis* und *Guignardia himalayensis*).

Vergr. 1000×

Während also die Hauptfruchtform dieses Pilzes in allen Teilen der von *Guignardia latemarensis* E. Müller entspricht, unterscheidet sich die Nebenfruchtform vor allem durch die konstant hellgelben Gehäuse von der dunkelbraune Gehäuse bildenden *Kabatia lonicerae* (Harkn.) v. Höhn. Nach der ersten Beschreibung (Bubák und Kabát 1905) sollen auch die Sporen konstant größer sein, nämlich 33—55 ≒ 7—11 μ gegenüber 24—

46 ≒ 6—9 μ bei *Kabatia lonicerae*. Schon VON HÖHNEL (1927) hat aber darauf hingewiesen, daß sich die beiden Arten in den Sporengrößen kaum unterscheiden und die Maße nicht als Unterschiede angenommen werden dürften. An Hand unseres Materials aus den verschiedensten Gegenden kann dieser Befund nur bestätigt werden. Immerhin scheint bei *Kabatia mirabilis* die Stielzelle der Konidien im allgemeinen etwas feiner gebaut und im Durchschnitt auch etwas länger zu sein als bei *Kabatia lonicerae*.

3. *Guignardia himalayensis* E. Müller nov. spec.

Matrix: Für Haupt- und Nebenfruchtform: *Lonicera quinquelocularis* Hartw.
Verbreitung: Himalaya
Konidienform: *Kabatia*

Status ascophorus: vide *Guignardia mirabilis*.

Status conidiophorus: Maculae laxe irregulariter sparsae, plerumque omnino irregularis rotundatae vel ellipticae, flavo brunneae, linea obscuriore vix vel parum elevata bene definitae, 3—8 mm diam. Pycnidia amphigena, laxe et irregulariter sparsa, orbicularia, 150—250 μ diam. membrana basali hyalina, indistincte parenchymatica, conidiophoris breviter cylindraceis vel fere papilleformibus instructa. Strato tegente maeandrice parenchymatico vel indistincte radioso, maturitate laciniis nonnullis irregulariter stellatim dehiscentia. Conidia clavata, 23—35 × 13—16, prope basem septatae, hyalina.

Hab. in foliis vivis (status conidiophorus) et emortuis (status ascophorus) *Lonicerae quinquelocularis* Hartw. — India, Himalaya, Kumaon, Ostgarhwal, Gwaldam, 26. 5. 1957.

Wie schon oben erwähnt, gilt die Beschreibung der Hauptfruchtform bei *Guignardia mirabilis* auch für diesen Pilz. Die Nebenfruchtform bildet auf den lebenden Blättern oft unregelmäßig begrenzte, meist rundliche, gelbbraune, von einem sehr schmalen, dunkleren Saume scharf begrenzte Flecke, in denen die rundlichen, 150 bis 250 μ breiten Gehäuse relativ spärlich wachsen. Diese kommen ausschließlich blattoberseits vor und werden subkutikulär angelegt. An der 8 bis 10 μ tiefen Basis aus zwei bis drei Lagen von rundlichen, 3 bis 5 μ großen, hyalinen, zartwandigen Zellen werden an kurzen, höckerigen Konidienträgern keulige, hyaline und von einem körnigen Plasma erfüllte 23—35 × 13—16 μ große, unten sich stark verjüngende und oft mehr oder weniger gekrümmte, nahe am unteren Ende mit einer Querwand versehene Konidien abgeschnürt. Das Lager wird überdeckt von einem Kranz aus dicht parallel nebeneinander stehenden, braunen, 3 bis 4 μ dicken, septierten, derbwandigen Hyphen, welche frei enden und oben eine unregelmäßige, meist lappig umrandete Mündung freilassen.

Dieser Pilz, der auf einer Reise nach Indien, die ich dank einem Stipendium der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft ausführen konnte, gesammelt wurde, entspricht habituell *Guignardia latemarensis*. Wie bei dieser sind die Fruchtgehäuse der parasitisch in Blattflecken lebenden Nebenfruchtform braun. Hingegen weichen die Sporen deutlich ab und sind

Tabelle

Die *Lonicera*-bewohnenden *Guignardia*-Arten und ihre Nebenfruchtformen

Pilzart	Verbreitungsgebiet	Wirte		Nebenfruchtform		
		Hauptfruchtform	Nebenfruchtform	Gehäusefarbe	Konidiengröße	Konidienseptierung
Guignardia latemarensis E. Müller	Alpen, nördliches Nordamerika	*Lonicera coerulea* L.	*Lonicera canadensis* Marsh. *coerulea* L. *conjugalis* Kellogg ? *involucrata* (Rich.) Banks ? *oblongifolia* (Soldie) Hook.	braun	24—46 × 6—9 µ	Mitte
Guignardia mirabilis E. Müller	mitteleuropäische Gebirge	*Lonicera nigra* L.	*Lonicera alpigena* L. *nigra* L.	gelb	24—55 × 7—10 µ	Mitte
Guignardia himalayensis E. Müller	Himalaya	*Lonicera quinquelocularis* Hartw.	*Lonicera quinquelocularis* Hartw.	braun	23—35 × 13—16 µ	am unteren Ende oder fehlend
Guignardia minuta v. Arx et E. Müll.	circum-polar	*Lonicera caprifolium* L. *etrusca* Santi	*Lonicera arborea* Boiss. *caprifolium* L. *etrusca* Santi *hispida* L. *xylosteum* L. u. a.	braun	20—26 × 7—9 µ	fehlend
Guignardia Loniceae Dearn et Barth.	Kalifornien	*Lonicera hispidula* Dougl.	—	—	—	—
Colletotrichella persica	Persien	—	*Lonicera* spec.	braun	5—12 × 3—5 µ	fehlend

denjenigen von *Colletotrichella periclymeni* (Desm.) v. Höhn. viel mehr ähnlich. Diese Nebenfruchtform muß als Übergangsform zu dieser Formgattung gewertet werden, da neben den septierten Sporen stets auch unseptierte vorkommen.

Der gegenwärtige Stand unserer Kenntnisse über die *Lonicera* bewohnende *Guignardia*-Arten läßt sich aus der Tabelle ablesen. Es ist aber anzunehmen, daß in Zukunft noch weitere Formen unterschieden werden müssen, welche heute zum Teil in den erwähnten Arten enthalten sind, zum andern Teil noch auf weiteren Wirten vorkommen werden. Dazu ist zu bemerken, daß die aus Kalifornien beschriebene *Guignardia Lonicerae* Dearn. et Barth. auf abgestorbenen Flecken lebender Blätter vorkommt und wahrscheinlich überhaupt keine Nebenfruchtform besitzt. In die Tabelle aufgenommen wurde auch die von Petrak (1939) aus Persien beschriebene *Colletotrichella persica* Petr., zu welcher bisher noch keine Hauptfruchtform bekannt geworden ist.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden zwei neue, *Lonicera* bewohnende Arten aus der Ascomycetengattung *Guignardia* Viala et Ravaz, nämlich *Guignardia mirabilis* und *Guignardia himalayensis*, beschrieben. Die Hauptfruchtform beider Arten ist gleich gebaut wie diejenige der früher beschriebenen *Guignardia latemarensis* E. Müller, hingegen unterscheiden sich die drei Arten durch die Morphologie ihrer Nebenfruchtformen und durch ihre Wirtswahl. Unsere heutigen Kenntnisse über den ganzen Formenkreis wurden tabellarisch zusammengestellt.

Summary

Two new species of the Ascomycete genus *Guignardia* Viala et Ravaz which are parasitic on *Lonicera* species have been described. The sexual stage agreed in both cases with *Guignardia latemarensis* E. Müller. The three species differed in the morphology of their imperfect stage *(Kabatia)* and in their hosts. Our present knowledge of all *Guignardia* species which infect members of the genus *Lonicera* has been summarized in the Table.

Literaturverzeichnis

von Arx, J. A., 1957: Revision der zu *Gloeosporium* gestellten Pilze. Verhandl. Konikl. Nederl. Ak. Wetensch. afd. Natuurk. Twede Reeks, Deel **51** (3), 1—153.

Bubák, Fr., und J. E. Kabát, 1904: Einige neue Imperfekten aus Böhmen und Tirol. Österr. Bot. Z. **54**, 22—31.

— —, und — —, 1905: Vierter Beitrag zur Pilzflora von Tirol. Österr. Bot. Z. **55**, 139—245.

— —, und — —, 1912: Mykologische Beiträge VII. Hedwigia **52**, 340—363.

von Höhnel, F., 1927: Über die Gattung *Kabatia* Bub. Mitt. Bot. Inst. Techn. Hochschule Wien **4**, 100.

Müller, E., 1953: Kulturversuche mit Ascomyceten I. Sydowia **7**, 325—334.

— —, 1957: Haupt- und Nebenfruchtformen bei *Guignardia* Viala et Ravaz. Sydowia, Beiheft **1**, 210—224.

Petrak, F., 1939: In K. H. Rechinger, Ergebnisse einer botanischen Reise nach dem Iran, 1397. Fungi, in Ann. naturhist. Museums Wien, p. 483.

Aus dem phytopathologischen Laboratorium „Willie Commelin Scholten", Baarn

Colletotrichum graminicola (Ces.) Wils. auf Mais und verschiedenen anderen Pflanzen

Von

Helga H. L. Zwillenberg

Mit 7 Abbildungen

Besonders aus wärmeren Ländern ist *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. als Ursache von Krankheiten auf verschiedenen — vor allem großen — Gramineen, wie z. B. *Saccharum, Panicum* und *Sorghum,* bekannt. Der Pilz wurde in Europa aus Deutschland (Böhning & Wallner 1936) und Frankreich (Messiaen 1955) beschrieben. In Holland kommt der Pilz auf Mais vor, wo er auf den Stengeln und Blättern eine oft in Fäulnis übergehende Anthracnose verursacht. Die genannten Autoren beschrieben außerdem einen Befall der Maiskörner, der auch von uns festgestellt werden konnte (Abb. 1). In Amerika wurde *Colletotrichum graminicola* auf zahlreichen Gramineen gefunden (vgl. Sprague 1950, Bruel & Dickson 1950, Le Beau 1951, Moseman 1952). Nach Tiffany & Gilman (1954) soll der Pilz auch gewisse Papilionaceen u. a. *Vicia*-Arten, befallen. Die Ascusform wurde nur gelegentlich in Amerika auf Mais gefunden (Carvajal & Edgerton 1944) und mit *Physalospora tucumanensis* Speg. = *Glomerella tucumanensis* (Speg.) v. Arx et Müller identifiziert.

Abb. 1. Befallene Körner eines mit einer Sporensuspension infizierten Maiskolbens

Wir stellten uns als Aufgabe, die Wirtspflanzenwahl, das Eindringen

des Pilzes in die Pflanzen und deren Abwehrreaktion zu untersuchen. Da in der Literatur mehrere Angaben über latente Infektionen durch verschiedene *Colletotrichum*- und *Gloeosporium*-Arten vorkommen (siehe u. m. SHEAR & WOOD 1913, SIMMONDS 1940, FULTON 1948, TIFFANY 1951, MESSIAEN 1955), interessierte uns ferner die Frage, ob *Colletotrichum graminicola* auch latent in der Pflanze zu leben vermag. In diesem Falle müßte der Pilz aus nach Infektionsversuchen symptomlos gebliebenen, äußerlich desinfizierten Pflanzen isoliert werden können.

Material und Methode

Als Versuchspflanzen wurden verwendet: 2 bis 3 Wochen alte Pflanzen von *Zea Mais* (Rasse „Goudster"), die Getreidearten *Triticum vulgare* (Heine VII), *Secale cereale* (Petkuser), *Hordeum vulgare* (Abed Kenia), *Avena sativa* (Binder und Noire de Moyencourt), ferner die Gräser *Dactylis glomerata* und *Lolium perenne* und die Futterwicke *Vicia villosa.* Letztere Pflanze wurde gewählt, da sie von TIFFANY & GILMAN (1954) als Wirtspflanze von zwei *Colletotrichum*-Kulturen, die diese Autoren mit *Colletotrichum graminicola* identifizierten, angegeben wird. Die Pflanzen wurden in Holzkästen oder in Blumentöpfen im Freien aus Saat aufgezogen.

Die Untersuchungen wurden mit einem von Maispflanzen isolierten Stamm von *Colletotrichum graminicola* ausgeführt. Die Infektionsversuche auf lebenden, grünen Pflanzen wurden im Freien und später, der Jahreszeit zufolge, in einem Gewächshaus bei einer Temperatur von ungefähr 26 °C vorgenommen. Als Inokulum wurden Sporensuspensionen von Einspor-Kulturen auf Hafermehlagar verwendet. Diese wurden über die Pflanzen vernebelt oder mit Pinsel oder Öse auf mit Ölfarbe umrandete Blattstellen gebracht. Auch wurden Blätter mit Konidienschleim aus den Acervuli bestrichen. Um die zur Sporenkeimung nötige Luftfeuchtigkeit zu erreichen, wurden die Pflanzen nach der Infektion mit einer Plastikhülle bedeckt oder in einen mit feuchtem Filtrierpapier ausgeschlagenen Glaskasten gesetzt.

Zur Beobachtung der Symptome auf steril aufgewachsenen Pflanzen wurden Mais-, Weizen-, Hafer-, Gerste- und Roggenpflanzen einzeln unter sterilen Umständen in Glasröhren im Laboratorium aus Saat gezüchtet. Die Pflanzen wurden entweder durch Vernebelung von Sporensuspension in der Röhre oder durch Bepinselung der Blätter mit Sporensuspension infiziert.

Um das Verhalten des Pilzes auf absterbenden Blättern zu beobachten, wurden frisch gepflückte, grüne Blätter von Weizen, Futterwicke, *Lolium* und *Dactylis* eine Minute in Sublimat-Alkohol getaucht und hierauf in strömendem Leitungswasser eine halbe Stunde gespült. Auch wurden Blätter ohne Vorbehandlung eine halbe Stunde lang gespült. Die Blätter wurden darauf in Petrischalen auf feuchtes Filtrierpapier gelegt, auf bestimmten Blattstellen mit Sporensuspension versehen und im Thermostaten bei 26 °C inkubiert. Diese Versuche wurden dreimal wiederholt.

Für die mikroskopische Untersuchung wurden Blattstücke von den infizierten Pflanzen oder den abgeschnittenen, infizierten Blättern nach bestimm-

ten Zeitabschnitten in angesäuertem, 70 %igem Alkohol fixiert und danach über die Alkoholreihe, Methylbenzoat und Benzol in Paraffin eingebettet. Von den Blattstücken wurden 13 μ dicke Serien-Mikrotomschnitte angefertigt, die mit Thionin-Orange G gefärbt wurden. Bei dieser Färbung (Gurr 1953) nimmt das Myzel eine rötlichviolette Farbe an.

Zum makroskopischen Nachweis einer möglichen Latenz des Pilzes wurden 7 bis 8 Tage nach der Infektion grüne, symptomlos gebliebene Blätter mit einer 7 %igen Lösung von Natriumhypochlorit (nach Morel 1948) äußerlich während 15 bis 40 Minuten desinfiziert, hierauf in kleine Stücke geschnitten, auf Hafermehlagar in Petrischalen ausgelegt und im Thermostaten bei 26 °C inkubiert. Bei der beschriebenen Desinfektion sollten nur das an der Blattoberfläche haftende Myzel oder die Appressorien getötet werden. Die Appressorien abtötende Wirkung des Hypochlorits wurde mit Deckglasstückchen, auf denen Konidien mit Appressorien gekeimt waren, kontrolliert. Die Glasstückchen wurden in gleicher Weise wie die Blattstücke behandelt. Außerdem wurden symptomlos gebliebene Blätter 3 bis 4 Wochen nach der Infektion gepflückt, mit Wasser abgespült, in kleinen Stücken auf Hafermehlagar ausgelegt und bei 26 °C inkubiert.

Befunde

1. Die Wirtspflanzenwahl

Die Infektionsversuche hatten bei den obengenannten Pflanzen folgende Resultate:

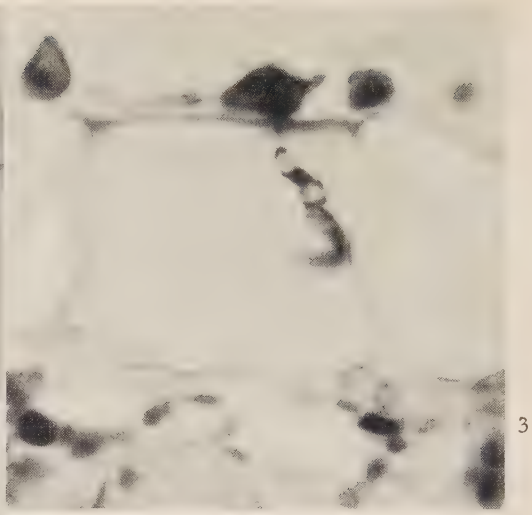
Auf den Blättern von Mais entstanden im Freien nach 4 bis 10 Tagen, bei 26 °C im Gewächshaus innerhalb von zwei Tagen und in den Glasröhren bei Zimmertemperatur nach 2 bis 4 Tagen sich rotbraun verfärbende und später in Fäulnis übergehende Flächen, in denen sich bald die durch die Setae schwarz erscheinenden Acervuli entwickelten.

Bei Roggen entstanden vor allem auf den Blättern, aber auch auf den Stengeln, kleine, nekrotisch verfärbte Flecke, in denen der Pilz teilweise steril blieb, teilweise einige Acervuli mit keimfähigen Konidien bildete. Vor allem von den in Glasröhren gezogenen Pflanzen ließ sich der Pilz leicht reisolieren. Mit Einsporkulturen dieser Reisolierungen wurden erneut Infektionsversuche auf Roggen und Mais ausgeführt. Nach drei Passagen durch Roggen war die Pathogenität des Pilzes für Roggen und für Mais unverändert geblieben[1]).

Die Infektionsversuche auf den übrigen Gramineen blieben, sofern es lebende Pflanzen betraf, ohne Resultat. Wohl entstanden in einzelnen Fällen, vor allem an den Blattspitzen, gelbe Verfärbungen. Es wurden aber niemals Acervuli gesehen. Bei den in Glasröhren gezogenen Pflanzen traten gelegentlich Acervuli auf verwelkenden Blättern, Stengelteilen und Wurzeln auf. Zu diesem Zeitpunkt waren aber auch die Kontrollpflanzen im Absterben.

[1]) Diese Versuche mit Roggen, sowie die im nächsten Absatz beschriebenen Versuche mit Hafer und Gerste wurden von Frau J. M. Dekhuizen-Maasland ausgeführt, der ich für die Überlassung der Befunde vielmals danke.

2



3

4

Abb. 2. Mikrotomschnitt durch ein Blatt von *Zea Mais*. 13 μ. Eine feine Infektionshyphe hat die Kutikula und die Epidermiswand durchbohrt. Keilförmige Verdickung der Epidermiswand. 900×

Abb. 3. Mikrotomschnitt durch ein Blatt von *Zea Mais*. 13 μ. Ein Appressorium ist mit einer feinen Infektionshyphe gekeimt, die sich nach dem Verlassen der Epidermiszellwandverdickung zu einer Hyphe von normaler Größe verbreitert. 1170×

Abb. 4. Mikrotomschnitt durch ein Blatt von *Vicia villosa*. 13 μ. Die Epidermiszelle hat auf das Appressorium von *C. graminicola* mit einer großen keilförmigen Verdickung der äußeren Wand reagiert. 1170×

Bei *Vicia* konnte kein Befall durch den Pilz festgestellt werden. Auch auf den abgestorbenen Blättern wurden niemals Acervuli gesehen.

2. Das Eindringen in die Pflanze

a) Das Eindringen in Blätter lebender Pflanzen

Das Eindringen des Pilzes wurde bei Mais, *Lolium, Dactylis,* Weizen und Wicke mikroskopisch untersucht. Hierbei wurde allererst festgestellt, daß die in wässerigen Suspensionstropfen auf die Blätter gebrachten Konidien bei allen Pflanzen mit Appressorien gekeimt waren.

Bei Mais verläuft das Eindringen des Pilzes in die Blätter sehr schnell. Unter dem Appressorium, das sich fest an die Kutikula heftet, wird in der äußeren Epidermiszellwand als Abwehrreaktion eine keilförmige Verdickung gebildet (Abb. 2). Die sehr feine Infektions- oder Perforationshyphe durchwächst die Kutikula und die Epidermiszellwandverdickung und verbreitert sich unmittelbar nach dem Austreten aus dem feinen Perforationskanal zu

einer Hyphe von normaler Dicke (Abb. 3). Innerhalb weniger Tage haben sich die Hyphen, die die Zellen meist geradlinig durchwachsen, schon überall im Blattgewebe verbreitet, wobei sie sich vor allem in der Nähe der Gefäßbündel ansammeln. Kurz darauf werden in der Epidermis die Acervuli angelegt, deren Träger die Kutikula durchbrechen und an der Blattoberfläche reichlich Konidien bilden. Ab und zu waren feine Myzelfäden zu sehen, die die intra- und subepidermalen Hyphen durch die Außenwand der Epidermis und die Kutikula hindurch mit den Setae verbanden. Zu diesem Zeitpunkt war das Blattgewebe schon ganz in sich zusammengefallen. Ein Eindringen des Pilzes durch Stomata wurde niemals beobachtet.

Von Weizen, *Lolium, Dactylis* und Wicke wurden grüne, symptomlos gebliebene Blätter, die jeden zweiten Tag bis zu drei Wochen nach der Infektion abgepflückt wurden, untersucht. Bei all diesen Pflanzen reagierten die Blätter auf das sich festsetzende Appressorium mit einer Verdickung der äußeren Epidermiszellwand. Bei der Wicke waren diese keilförmigen Verdickungen von auffallender Größe und fast schwarzer Farbe (Abb. 4). Bei Weizen blieb die Wandverdickung sehr klein (Abb. 5). Bei *Lolium* und *Dactylis* (Abb. 6) wurde sie etwas größer als beim Weizen und färbte sich ebenso wie bei diesem mit Thionin-Orange G rotviolett. Weder bei Weizen noch bei Wicke konnte ein Eindringen des Pilzes beobachtet werden. Auch bei *Dactylis* und *Lolium* war dies nicht eindeutig festzustellen. In einigen Schnitten von *Dactylis* hatte es jedoch den Anschein, als ob aus der Epidermiszellwandverdickung ein feines Hyphenspitzchen zum Vorschein käme, während in einem Schnitt von *Lolium* sehr feine Verbindungsfäden vom Appressorium durch die Kutikula nach der Wandverdickung zu laufen schienen. Es besteht

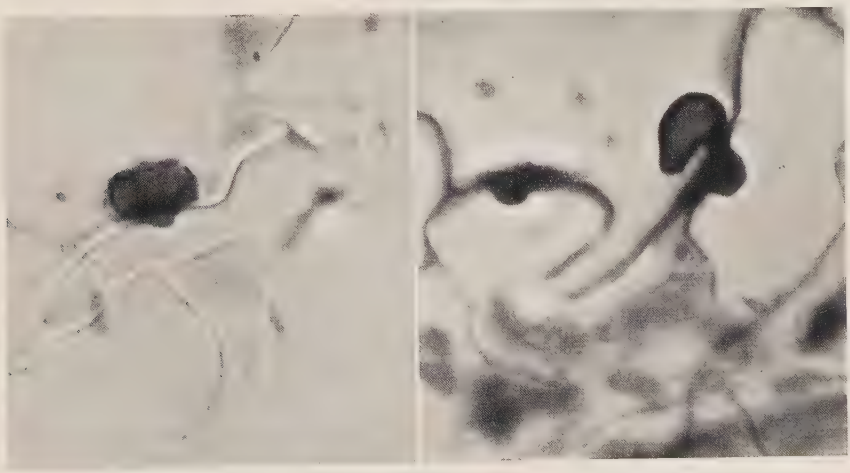


Abb. 5 (links). Mikrotomschnitt durch ein Blatt von *Triticum vulgare*. 13 μ. Die Epidermiszelle hat auf das Appressorium von *C. graminicola* mit einer kleinen Wandverdickung reagiert. 1170×

Abb. 6 (rechts). Mikrotomschnitt durch ein Blatt von *Dactylis glomerata*. 13 μ. Ein Appressorium mit darunter gelegener Wandverdickung der Epidermiszelle. Auch die benachbarte Zelle zeigt eine Wandverdickung. 1170×

aber die Möglichkeit, daß diese nur selten gesehenen Bilder Artefakte oder optische Täuschungen waren. Eine deutliche Perforation der Kutikula und der Epidermis wurde nicht beobachtet. Subkutikuläre oder tiefer im Blattgewebe verlaufende Hyphen konnten niemals festgestellt werden.

b) Das Eindringen in abgeschnittene Blätter

Bei Weizen, *Lolium* und *Dactylis* wurden auf den vergilbten Stellen der mit Sublimat-Alkohol behandelten Blätter 2 bis 3 Tage nach der Infektion mit Sporensuspension Acervuli mit Setae gefunden. Manchmal wurden auch Acervuli auf noch grün gebliebenen Stellen gebildet. Bei den nur mit Wasser gespülten Blättern wurden die Acervuli nach 3 bis 5 Tagen gefunden. Die mikroskopische Untersuchung der mit Sublimat-Alkohol behandelten Blätter ergab, daß das Myzel 5 Tage nach der Infektion oberflächlich eingedrungen war, offenbar aber nur an schon absterbenden Stellen des Blattgewebes, und dort sogleich kleine Acervuli mit wenig Setae, aber reichlich Konidien gebildet hatte (Abb. 7). Eine Durchwucherung des ganzen Blattquerschnittes und ein Zusammenfallen des Gewebes, wie dies im Stadium der Acervulusbildung beim Maisblatt gesehen wurde, lag hier nicht vor. Das Blattgewebe, das an die durch den Pilz angegriffenen Stellen grenzte, machte einen recht normalen Eindruck.

Abb. 7. Mikrotomschnitt durch ein Blatt von *Lolium perenne*. 13 μ. Acervulus von *C. graminicola* auf einem mit Sublimat-Alkohol behandelten und hierauf infizierten Blatt. 495×

Bei den abgeschnittenen Blättern der Wicke konnte auch bei der mikroskopischen Untersuchung kein Befall durch den Pilz festgestellt werden.

3. Lebensdauer der Appressorien, Resistenz gegen Hypochlorit

Aus den mit der MORELschen Hypochloritmethode 7 bis 8 Tage nach der Infektion desinfizierten, symptomlosen grünen Blattstücken von Wicke, Weizen, *Lolium* und *Dactylis* entwickelten sich nach viertägiger Inkubation Kulturen von *C. graminicola*. Einige negative Resultate waren auf ein ungenügendes Haftenbleiben des Suspensionstropfens auf den markierten Blatt-

stellen zurückzuführen. Bei der Kontrolle der Wirksamkeit des Hypochlorits stellte sich aber heraus, daß sich auch die auf Stückchen von Deckgläsern haftenden Appressorien, nach Behandlung mit Hypochlorit, innerhalb einiger Tage auf Hafermehlagar zu Kulturen von *Colletotrichum graminicola* entwickelten. Die Anwendung anderer Desinfektionsmittel wurde unterlassen, da keine Sicherheit bestand, daß diese (z. B. Sublimat) nicht tiefer in das Blatt eindringen. Es wurde nur noch ein Versuch ausgeführt, der die Keimfähigkeit der Appressorien einige Zeit nach der Infektion demonstrierte. Aus nur mit Wasser abgespülten symptomlosen, grünen Blättern von Wicke, Weizen und *Dactylis* konnte noch 3 bis 4 Wochen nach der Infektion *Colletotrichum graminicola* auf Hafermehlagar gezüchtet werden.

Diskussion

Die Befunde haben gezeigt, daß *Colletotrichum graminicola* bei Mais in grüne, gesunde Blätter einzudringen vermag und diese schnell und vollständig durchwuchern kann. Bei Roggen ist die Pathogenität des Pilzes erheblich schwächer. Die Tatsache, daß bei den übrigen Versuchspflanzen mikroskopisch kein latentes Myzel innerhalb der grünen Blätter eindeutig festzustellen war, sich jedoch aus symptomlosen Blättern einige Zeit nach der Infektion das Pilzmyzel entwickeln konnte, spricht dafür, daß bei diesen Pflanzen der Pilz in Form von Appressorien, die ihre Keimfähigkeit längere Zeit behalten, oberflächlich latent bleibt. Die Versuche mit abgeschnittenen Blättern und mit steril in Glasröhren gezogenen Pflanzen haben gezeigt, daß der Pilz nur in verwelkendes oder abgestorbenes Blattgewebe von *Lolium*, *Dactylis*, Hafer, Weizen und Gerste, also nur in Gramineen, eindringen und dort seinen Lebenszyklus fortsetzen kann. In der Papilionacee *Vicia villosa* bleiben zwar die Appressorien an der Blattoberfläche einige Zeit am Leben, aber die Pflanze bleibt unter allen Umständen völlig resistent. Aus der Bildung der Epidermiszellwandverdickung geht jedoch hervor, daß der Pilz nicht ohne jeglichen Einfluß auf die Pflanze ist. Die Pflanze verhält sich also dem Pilz gegenüber nicht indifferent, sondern resistent.

Tiffany & Gilman (1954) haben mit *Colletotrichum*-Kulturen, die sie selber mit einigem Vorbehalt *C. graminicola* nennen, erfolgreich neben anderen Papilionaceen auch *Vicia* infiziert. Da die von diesen Autoren angegebene mittlere Sporengröße der Kulturen uns aber für *Colletotrichum graminicola* sehr klein zu sein scheint und außerdem Konidien mit abgerundeten Enden beschrieben werden, während *Colletotrichum graminicola* bekanntlich spitz endigende Konidien besitzt, haben wir den Eindruck, daß bei diesen Versuchen mit einer anderen *Colletotrichum*-Art, möglicherweise mit *Colletotrichum dematium* f. *truncata* (Schw.) v. Arx gearbeitet wurde.

Zum Schluß möchte ich Frau Prof. Dr. L. C. P. Kerling und Herrn Dr. J. A. von Arx für ihre Hilfe, Anregungen und wertvolle Kritik vielmals danken.

Zusammenfassung

Mit einem von Mais isolierten Stamm von *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. wurden Infektionsversuche bei Mais, Weizen, Hafer, Roggen und Gerste, bei den Gräsern *Lolium perenne* und *Dactylis glomerata* und bei der Futterwicke *Vicia villosa* ausgeführt. Bei Mais wurden die gesunden, grünen Blätter schnell und vollständig vom Pilz durchwuchert. Bei Roggen ist die Pathogenität des Pilzes erheblich schwächer. Bei den übrigen Gramineen konnte an gesunden Blättern kein Befall festgestellt werden. Die mikroskopische Untersuchung der Blätter von *Lolium, Dactylis* und Weizen zeigte, daß die Epidermiszellen auf das sich festsetzende Appressorium mit einer Verdickung der äußeren Zellwand reagieren. Latent bleibendes Myzel konnte nicht gefunden werden. Die Appressorien behalten dagegen einige Zeit ihre Keimfähigkeit. Es wurde festgestellt, daß der Pilz nur in absterbendes Blattgewebe eindringen und dort seinen Lebenszyklus fortsetzen kann. *Vicia villosa* reagiert auf die Infektion mit auffallend großen keilförmigen Verdickungen der äußeren Epidermiswand. Auch beim Absterben des Blattgewebes findet aber kein Eindringen des Pilzes statt. Es wird vermutet, daß TIFFANY & GILMAN (1954) mit einer anderen *Colletotrichum*-Art gearbeitet haben.

Summary

Leaves of maize, wheat, rye, barley and oats, the grasses *Lolium perenne* and *Dactylis glomerata*, and the vetch *Vicia villosa* were inoculated with a conidial suspension of a strain of *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils., isolated from maize. The plants were grown outdoors and in a greenhouse at 26 °C. Some of the Gramineae were grown under sterile conditions in test tubes at room temperature. The effect of the fungus on excised leaves was studied on wheat, *Dactylis*, *Lolium*, and *Vicia*.

After penetration into healthy green maize leaves, the fungus pervaded the leaf tissue rapidly and completely. Acervuli developed after 2 to 10 days. The pathogenicity towards rye is of a lesser degree: a few acervuli developed only on plants grown in test tubes under sterile conditions. No macroscopic lesions could be found on healthy leaves of the other gramineous plants. Microscopic examination of the leaves of *Lolium perenne, Dactylis glomerata* and wheat demonstrated a thickening of the outer walls of the epidermal cells at the sites of the appressoria. Neither the penetration of mycelium into the epidermal cells nor the presence of latent mycelium could be observed. The appressoria remain, however, viable for at least 3 to 4 weeks. It was found that the fungus was able to penetrate into excised leaves of these plants. Infection was restricted in this case to some parts of the leaf tissue, where small acervuli with some sparse setae and abundant conidia were developed. *Vicia villosa* responds to the infection by a conspicuous thickening of the outer epidermal cell wall. The fungus was unable to penetrate into the cells, even after the tissues had died off. The superficially adhering

appressoria remained viable for some time. TIFFANY and GILMAN (1954) observed penetration of a fungus supposed to be *C. graminicola* into leaves of vetch. It is presumed that this fungus belonged to another *Colletotrichum* species, possibly *C. dematium* f. *truncata* (Schw.) v. ARX.

Literaturverzeichnis

LE BEAU, F. J., I. E. STOKES, and O. H. COLEMAN, 1951: Anthracnoses and red rot of sorghum. U. S. Dep. Agric. Techn. Bull. **1035**, 1—21.

BÖHNING, K., und F. WALLNER, 1936: Welke, Fußkrankheit und andere Schädigungen an Mais durch *Colletotrichum graminicolum*. Phytopath. Z. **9**, 99—109.

BRUEL, G. W., and J. G. DICKSON, 1950: Anthracnoses of cereals and grasses. U. S. Dep. Agric. Techn. Bull. **1005**, 1—37.

CARVAJAL, F., and C. W. EDGERTON, 1944: The perfect stage of *Colletotrichum falcatum*. Phytopathology **34**, 206—213.

FULTON, J. P., 1948: Infection of tomato fruits by *Colletotrichum phomoides*. Phytopathology **38**, 235—246.

GURR, E., 1953: Practical manual of medical and biological staining technics. London, Leonard Hill Ltd.

MESSIAEN, C. M., 1955: Sur quelques anthracnoses des plantes cultivées. Annales des Epiphyties **3**, 285—299.

MOREL, G., 1948: Recherches sur la culture associée des parasites obligatoires et des tissus végétaux. Annales des Epiphyties **14**, 127—234.

MOSEMAN, J. G., 1952: *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wilson on Avena species. Iowa State Coll. J. Sci. **26** (2), 253.

SHEAR, C. L., and A. K. WOOD, 1913: Studies on fungous parasites belonging to the genus *Glomerella*. Bull. U. S. Dep. Agr. **252**, 1—110.

SIMMONDS, J. H., 1940: Latent infections in tropical fruits discussed in relation to the part played by species of *Gloeosporium* and *Colletotrichum*. Proc. Royal Soc. Queensland **12** (10), 92—120.

SPRAGUE, R., 1950: Diseases of cereals and grasses in North America. New York. The Ronald Press Company.

TIFFANY, L. H., 1951: Delayed sporulation of *Colletotrichum* on Soybean. Phytopathology **41**, 975—985.

— —, and J. C. GILMAN, 1954: Species of *Colletotrichum* from legumes. Mycologia **46**, 52—75.

Aus dem Institut für spezielle Botanik
der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich

Über Lycomarasminsäure, ein Umwandlungsprodukt des Lycomarasmins[1])

Von

E. Gäumann und St. Naef-Roth

Mit 2 Abbildungen

Für das Lycomarasmin, ein vom *Fusarium lycopersici* Sacc. gebildetes Welketoxin von der Formel $C_9H_{15}O_7N_3$, und für die welke-inaktive Substanz J, welche aus dem Lycomarasmin u. a. durch Abspaltung von 1 Mol Ammoniak entsteht, wurden auf Grund analytischer und synthetischer Versuche schon mehrere Strukturformeln vorgeschlagen (Plattner und Clauson-Kaas 1945, Plattner, Clauson-Kaas, Boller und Nager 1948, Woolley 1948, Boller 1951, Brenner, Tamm und Quitt 1958); sie gestatten aber, wie die Autoren selbst feststellen, keine zwanglose Deutung aller experimentellen Befunde.

Nun liegt über die chemische Struktur des Lycomarasmins eine neue Arbeit vor, mit welcher P. Liechti (1958) unter Leitung von Prof. Dr. E. Hardegger (Organisch-chemisches Institut unserer Hochschule) einen weiteren Beitrag zur Klärung dieser Probleme leistet. Der endgültige Strukturbeweis konnte zwar wiederum nicht erbracht werden. Doch ist für den Biologen interessant, daß Liechti eine neue Substanz zu isolieren vermochte, nämlich Lycomarasminsäure, die bei der Umwandlung von Lycomarasmin in Substanz J als Zwischenprodukt entsteht.

Liechti erhielt durch Erwärmen einer Lösung von Lycomarasmin in 0,31-n Bariumhydroxyd nicht, wie erwartet, unmittelbar die Substanz J, sondern eine neue, gut wasserlösliche, kristalline Tetracarbonsäure, Lycomarasminsäure, die sich bei 190 °C zersetzt und die Bruttoformel $C_9H_{14}O_8N_2$ besitzt, sich vom Lycomarasmin durch Mindergehalt von 1 Mol Ammoniak unterscheidet, im Vergleich zur Substanz J aber 1 Mol Wasser mehr enthält. Die Umwandlung von Lycomarasmin in Lycomarasminsäure wird als Hydrolyse einer Säureamid- oder einer äquivalenten Gruppe interpretiert.

[1]) Die vorliegende Arbeit wurde durch den schweizerischen Nationalfonds zur Förderung wissenschaftlicher Forschung unterstützt; wir möchten den zuständigen Behörden auch hier unseren Dank wiederholen.

Bei weiterem Erhitzen geht Lycomarasminsäure unter Abspaltung von Wasser in Substanz J über. Die Ausbeuten dieser beiden Umwandlungen sind nach Liechti folgende:

$$\text{Lycomarasmin} \xrightarrow{87\,\%} \text{Lycomarasminsäure} \xrightarrow{70\,\%} \text{Substanz J}$$

In welcher Weise sich diese drei Stoffe in den Kulturlösungen des *Fusarium lycopersici* das Gleichgewicht halten, ist unbekannt. Der papierchromatographische Nachweis von Lycomarasmin und Lycomarasminsäure in den Kulturfiltraten des Pilzes ist zwar möglich; doch konnte bis dahin noch kein Lösungsmittelsystem gefunden werden, das die zwei Stoffe in befriedigender Weise aufzutrennen vermag.

Während die Substanz J keinen Welkeeffekt besitzt, zeigt Lycomarasminsäure überraschenderweise eine hohe Welkeaktivität, die diejenige des Lycomarasmins, wie aus Tabelle 1 hervorgeht, wesentlich übersteigt. Die Austestung der Toxinlösungen erfolgte mit jungen Tomatensprossen (Gäumann, Naef-Roth und Miescher 1950). Die Symptome der Lycomarasminsäure entsprechen denjenigen des Lycomarasmins, also Blattnekrosen in den Interkostalfeldern, bei hohen Dosen Versteifung der ganzen Blattfläche, jedoch keine Schädigungen der Leitungsgewebe. Gleichzeitig wurde als Kontrolle auch das Lycomarasmin in die Versuche einbezogen, da die Toxinempfindlichkeit der Tomatenpflanzen jahreszeitlichen Schwankungen unterworfen ist (Gäumann und Naef-Roth 1953) und zudem vom Eisengehalt der Testpflanzen abhängt (Gäumann, Bachmann und Hütter 1957).

Die dosis minima beträgt in diesen Versuchen für Lycomarasmin 200 mg/kg, für Lycomarasminsäure jedoch nur 70 mg/kg. Die neu isolierte Substanz ist also ceteris paribus dreimal wirksamer als Lycomarasmin, währenddem Substanz J sich, wie erwartet, als nahezu unwirksam erwies (dosis minima wesentlich höher als 600 mg/kg).

Tabelle 1

Dosis minima für Tomatensprosse bei *Lycomarasmin* und seinen Abbauprodukten

Die dosis minima entspricht der Toxinmenge, welche bei jungen Tomatensprossen Schädigungen von der Intensität 1,5 auslöst.

Geprüfte Verbindung	verabreichte Dosis mg/kg Frischgewicht	Welke-Index	dosis minima mg/kg Frischgewicht
Lycomarasmin	300	1,85	ca. 200
	150	1,23	
	75	0,60	
Lycomarasminsäure	300	3,22	ca. 70
	150	2,31	
	75	1,65	
	38	0,73	
Substanz J	600	0,50	$\gg$ 600
	300	0,16	

In den übrigen biologischen Tests verhalten sich Lycomarasmin und Lycomarasminsäure gleicherweise indifferent wie Substanz J, d. h. sie hemmen selbst in der Konzentration von $2 \cdot 10^{-2}$ molar weder die Keimung von Maisbrandsporen noch das Wachstum von Bakterien (*Escherichia coli, Bacillus subtilis, Micrococcus pyogenes*) und Pilzen (*Candida, Saccharomyces, Rhizoctonia solani*). Auch die Schädigung des Wasserhaushaltes abgeschnittener Tomatensprosse erfolgt (wie demnächst GÄUMANN, KERN und OBRIST in dieser Zeitschrift darstellen werden) bei der Lycomarasminsäure in einer ähnlichen Weise wie beim Lycomarasmin; dagegen vermag die Lycomarasminsäure (worüber demnächst GÄUMANN und OBRIST in dieser Zeitschrift berichten werden) im Gegensatz zum Lycomarasmin in den Konzentrationen von 10^{-7} bis 10^{-5} molar die Wasserpermeabilität der Protoplasten von *Rhoeo discolor* deutlich zu erhöhen.

Auch hinsichtlich ihrer Fähigkeit, Schwermetallionen zu chelieren, verhalten sich Lycomarasmin und Lycomarasminsäure ähnlich. Beim Lycomarasmin vermag ja jede Molekel sich ein Eisenion anzulagern und mit ihm einen zyklisch gebauten Komplex zu bilden, wodurch seine Giftigkeit (in einem bestimmten Mischungsbereich von nichtchelierten Lycomarasminmolekeln zu Lycomarasmin-Eisen-Komplexen) bis auf rund das Zehnfache gesteigert wird (GÄUMANN, NAEF-ROTH und KERN 1955). Wenn in einer Lösung jede Lycomarasminmolekel ein Eisenion angelagert erhält, so bezeichnen wir dieses Mischungsverhältnis als „äquimolar".

In einer zweiten Versuchsreihe wurde deshalb geprüft, ob analog zum Lycomarasmin auch die Lycomarasminsäure als Eisenchelat eine höhere Toxizität für Tomaten besitzt. Interessehalber wurde auch eine Lösung der Substanz J mit äquimolarem Eisenzusatz mitgetestet.

Tabelle 2 läßt erkennen, daß auch bei der Lycomarasminsäure, wie beim Lycomarasmin, die Toxizität in Verbindung mit Eisenionen wesentlich ge-

Tabelle 2
Die Toxizität der „aequimolaren" Eisenchelate von Lycomarasmin und Lycomarasminsäure für Tomatensprosse

Geprüftes Chelat	verabreichte Dosis mg/kg Frischgewicht	Welke-Index	dosis minima mg/kg Frischgewicht
Lycomarasmin + Fe^{+++}	75	2,65	ca. 37
	38	1,55	
	20	0,70	
	10	0,05	
Lycomarasminsäure + Fe^{+++}	75	2,87	ca. 28
	38	1,81	
	20	0,95	
	10	0,30	
Substanz J + Fe^{+++}	300	0	$\geqslant$ 600
	150	0	
	75	0	

steigert wird; denn die dosis minima fällt von 70 mg je kg Lebendgewicht für die reine Säure auf 28 mg/kg für den äquimolaren Eisenkomplex. Die relative Toxizitätssteigerung ist jedoch bei der Lycomarasminsäure erheblich geringer als beim Lycomarasmin: bei der Lycomarasminsäure wird die dosis minima im Falle unseres Versuches durch die äquimolare Anlagerung von Eisenionen nur von 70 auf 28 mg/kg, also auf rund 40 %, gesenkt, beim Lycomarasmin dagegen von 200 auf 37 mg/kg, also auf rund 18 %. Den Ursachen dieser Diskrepanz wurde im Rahmen der vorliegenden Untersuchung nicht nachgegangen.

Wegen dieser unterschiedlichen Toxizitätssteigerung liegt in Tabelle 2 die Giftigkeit der beiden Eisenkomplexe (wenn sämtliche Molekel ein Eisenion cheliert haben) in der gleichen Größenordnung, nämlich bei 37 mg/kg für das Fe-Lycomarasmin und bei 28 mg/kg für die Fe-Lycomarasminsäure. Das Fe-Lycomarasminsäurechelat erreicht somit (trotz der höheren Giftigkeit der Lycomarasminsäure) bei Absättigung sämtlicher Lycomarasminsäuremolekeln mit Eisen keine höhere Giftigkeit für Tomatensprosse als das Fe-Lycomarasminchelat.

Die Symptomausprägung bei jungen Tomatensprossen entspricht bei Vergiftung der Tomaten mit Fe-Lycomarasminsäure vollkommen derjenigen von Fe-Lycomarasmin und Fe-Komplexon III (Gäumann, Naef-Roth und Kern 1955): die Nekrosen erscheinen dunkler gefärbt, und die Fiederblättchen sind mit dunklen Äderchen durchzogen. — Dagegen bleibt Substanz J auch mit Zusatz von Eisen inaktiv; dies entspricht den Erwartungen, da ihr Molekül Schwermetallionen nicht zu chelieren vermag.

In einem ähnlichen Sinne wie beim Lycomarasmin gestaltet sich auch bei der Lycomarasminsäure das gegenseitige Verhältnis der Eisen- und der Kupferionen. Werden nämlich dem Lycomarasmin vor der Aufnahme in die Tomatensprosse äquimolare Mengen von Kupferionen angelagert, so vermag es (da das Chelierungsvermögen der Kupferionen größer ist als dasjenige der Eisenionen) auf seinem Wanderungsweg durch die Sprosse hinauf in die Blätter keine wirtseigenen Eisenionen mehr zu chelieren; es wird deshalb durch die präinfektionelle Anlagerung von Kupferionen entgiftet (Gäumann und Naef-Roth 1956, Kern 1956).

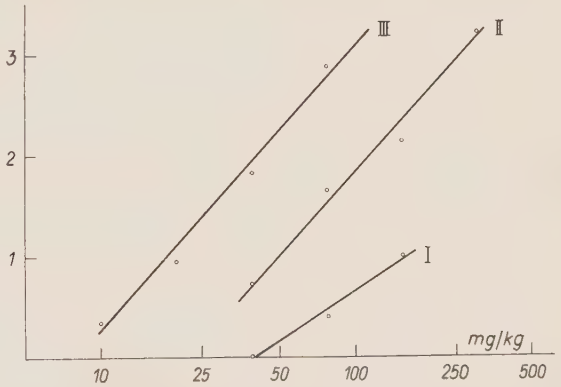


Abb. 1. Die Toxizität der Lycomarasminsäure und ihrer äquimolaren Eisen- bzw. Kupferchelate für junge Tomatensprosse. Abszisse: Dosis in mg je kg Frischgewicht. Ordinate: Welkeindex. Kurve I: Cu-Lycomarasminsäure. Kurve II: Lycomarasminsäure. Kurve III: Fe-Lycomarasminsäure

Derselbe Entgiftungsversuch wurde mit Lycomarasminsäure durchgeführt: durch Anlagerung von Kupferionen vor der Aufnahme in die Tomatensprosse wird die Lycomarasminsäure, wie das Lycomarasmin, entgiftet (Abb. 1, Kurve I), und umgekehrt wird durch die Anlagerung von Eisenionen ihre Toxizität, wie diejenige des Lycomarasmins, erhöht (Abb. 1, Kurve III).

Sowohl beim Lycomarasmin wie bei der Lycomarasminsäure erfolgt somit durch Anlagerung von Eisenionen eine Steigerung, durch Anlagerung von Kupferionen eine Herabsetzung der Toxizität, und bei beiden setzt bei steigender Anlagerung von Eisenionen die gleiche Veränderung der visuellen Schädigungssymptome ein; deshalb liegt der Schluß nahe, daß auch Lycomarasminsäure auf Grund ihres Komplexbildungsvermögens im Blattgewebe der Tomaten Eisenvergiftungen verursacht (Vehikeleffekt): nach dem gleichen Prinzip wie bei Lycomarasmin und der Modellsubstanz Komplexon III werden von der Lycomarasminsäure Eisenionen im Überschuß in die Blattgewebe transportiert, wo sie Eisenüberschwemmungsschäden auslösen.

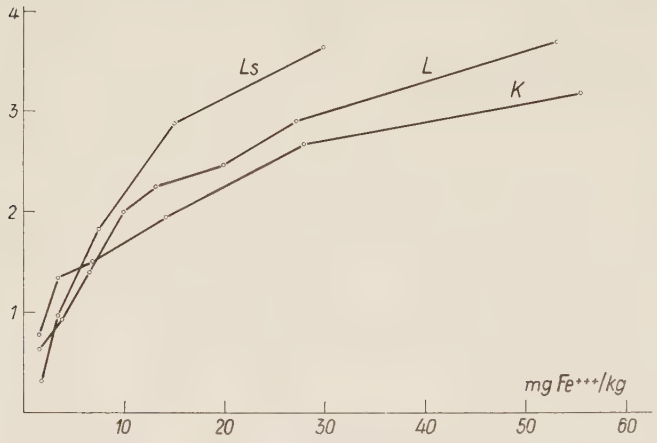


Abb. 2. Die Toxizität der äquimoralen Eisenkomplexe von Lycomarasmin (Kurve L), Lycomarasminsäure (Kurve Ls) und Komplexon III (Kurve K) für Tomatensprosse. Abszisse: Menge der zugeführten Fe^{+++}-Ionen in mg/kg Frischgewicht. Ordinate: Welkeindex

Die höhere Toxizität der Lycomarasminsäure im Vergleich zum Lycomarasmin könnte auf einer erhöhten Fähigkeit zur Komplexbildung beruhen, da auch die Dosis-Effekt-Kurve (Abb. 2) beim Fe-Lycomarasminsäurechelat steiler verläuft als beim Fe-Lycomarasminchelat. Doch wären zur weiteren Klärung dieser Verhältnisse neue Versuche notwendig, die mangels Substanz vorläufig nicht durchgeführt werden können.

Zusammenfassung

Lycomarasminsäure $C_9H_{14}O_8N_2$ ist ein Umwandlungsprodukt des Lycomarasmins und unterscheidet sich von ihm durch den Mindergehalt von ein Mol Ammoniak. Sie löst bei jungen Tomatensprossen qualitativ die gleichen Schädigungssymptome aus wie Lycomarasmin, ist jedoch (vielleicht wegen eines stärkeren Chelierungsvermögens) rund dreimal giftiger. Ihr Schädigungsmechanismus bei Tomatensprossen stimmt wahrscheinlich mit dem des

Lycomarasmins überein, denn ihre Toxität wird ebenfalls durch Anlagerung von Eisenionen gesteigert, durch Anlagerung von Kupferionen herabgesetzt; doch kann ihr Endwert (trotz des höheren Ausgangswertes) durch Anlagerung von Eisenionen nicht auf einen höheren Betrag als beim Lycomarasmin-Eisen-Komplex gebracht werden.

Summary

Lycomarasmic acid ($C_9H_{14}O_8N_2$) is a transformation product of lycomarasmin and differs from the former in containing one mol less ammonia. The acid form induces, qualitatively, the same injury-symptoms as lycomarasmin does. It is, however, three times more active than lycomarasmin, probably as a result of a stronger chelating capacity. The injury-inducing mechanism of the acid upon young tomato shoots is probably analogous with that of lycomarasmin, as its toxicity is also increased by an addition of iron ions and decreased by an addition of copper ions. However, in spite of the higher initial toxicity of lycomarasmic acid, the chelation of iron ions does not result in a greater toxicity than is realized by the lycomarasmin-iron complex.

Literaturverzeichnis

Boller, A., 1951: Über Lycomarasmin, ein welkaktives Stoffwechselprodukt aus *Fusarium lycopersici* Sacc. Dissertation E. T. H. Zürich, Prom. Nr. 2047, 122 S.

Brenner, M., R. Tamm und P. Quitt, 1958: Zum Problem der Struktur des Lycomarasmins Helv. Chim. Acta **41**, 763—773.

Gäumann, E., E. Bachmann und R. Hütter, 1957: Über den Einfluß der Ernährung auf die Lycomarasmin-Empfindlichkeit der Tomatenpflanzen. Phytopath. Z. **30**, 87—105.

— —, und St. Naef-Roth, 1953: Über den jahreszeitlichen Gang der Welketoxin-Empfindlichkeit der Tomatenpflanzen. Phytopath. Z. **20**, 449—458.

— —, und — —, 1956: Über die chelierende Wirkung einiger Welketoxine. IV. Die Verschiebungen der Toxizität durch steigende Absättigung mit verschiedenen Schwermetallionen. Phytopath. Z. **25**, 418—444.

— —, — —, und H. Kern, 1955: Über die chelierende Wirkung einiger Welketoxine. III. Die Verschiebungen der Toxizität durch steigende Absättigung mit Eisenionen Phytopath. Z. **24**, 373—406.

— —, — —, und G. Miescher, 1950: Untersuchungen über das Lycomarasmin. Phytopath. Z. **16**, 257—288.

Kern, H., 1956: Der Einfluß des Lycomarasmin-Kupfer-Komplexes auf den Wasserhaushalt abgeschnittener Tomatensprosse. Phytopath. Z. **27**, 55—59.

Liechti, P., 1958: Über Lycomarasmin. Dissertation E. T. H. Zürich, Prom.-Nr. 2789, 57 S.

Plattner, Pl. A., und N. Clauson-Kaas, 1945: Über ein Welke erzeugendes Stoffwechselprodukt von *Fusarium lycopersici* Sacc. Helv. Chim. Acta **28**, 188—195.

— —, A. Boller und U. Nager, 1948: Der hydrolytische Abbau des Lycomarasmins. Helv. Chim. Acta **31**, 860—869.

Woolley, D. W., 1948: Studies on the structure of Lycomarasmin. J. Biol. Chem. **176**, 1291—1308.

Aus der Eidgenössischen Landwirtschaftlichen Versuchsanstalt
Zürich-Oerlikon

Vorstand: Dr. R. Salzmann

Studien über die biologische Bodenentseuchung

II. Beeinflussung der Pathogenität von *Ophiobolus graminis* Sacc. durch die Mikrofloren verschiedener Böden mit verschiedenen Fruchtfolgen

Von

H. Zogg

Mit einer Abbildung

A. Einleitung und Problemstellung

Die bodenentseuchende Wirkung einer geregelten Fruchtfolge ist allgemein bekannt. Eine große Anzahl einzelner Faktoren, die allerdings in verschiedenen Richtungen wirken können, ist hierfür verantwortlich zu machen. Ihre Resultate kommen in der Praxis im Erfolg oder Mißerfolg bei der Ernte zum Ausdruck. Daß der Mikroflora des Bodens diesbezüglich eine große Bedeutung zuerkannt werden muß, liegt auf der Hand; denn sobald durch einen künstlichen Eingriff (Hitze, Chemikalien) die autochthone Mikroflora eines Bodens partiell oder total zerstört wird, kann sich ein pflanzlicher Wurzelparasit im Boden praktisch ungehindert ausbreiten.

Unsere Ackerböden weisen in der Regel eine beachtliche mikrobiologische Tätigkeit auf. Es ist anzunehmen, daß in den verschiedenen Bodenarten auch die Mikroflora in ihrer Zusammensetzung verschieden ist und einerseits in Abhängigkeit von pH, Humusgehalt, Bodendichte, Feuchtigkeit usw., anderseits aber wahrscheinlich auch in Abhängigkeit der angebauten Kulturpflanzenart variieren kann. Leider ist die qualitative mikrobiologische Zusammensetzung unserer verschiedenen Ackerböden in dieser Richtung noch viel zu wenig studiert worden, als daß sich eine solche Annahme beweisen ließe. Der Schlußeffekt einer geregelten Fruchtfolge auf verschiedenartigen Böden bleibt sich aber mindestens in einer Richtung gleich: Eliminierung von pflanzlichen Wurzelparasiten. Man darf also füglich annehmen, daß es sich hier um eine unspezifische „Reaktion" handelt, an der die verschiedenartigsten Mikroorganismen teilhaben können. Wahrscheinlich handelt es sich jeweils um das mehr

oder weniger zufällige Zusammenwirken einer Anzahl von Mikroorganismen, deren Artzugehörigkeit selbst eine geringere Rolle spielen dürfte.

Die Versuchsfragen für die vorliegenden Untersuchungen beziehen sich auf die oben kurz skizzierten Probleme:

Wie groß ist die Intensität der entseuchenden Wirkung verschiedener Böden in bezug auf *Ophiobolus graminis* Sacc., den Erreger einer Fußkrankheit des Getreides,

a) hinsichtlich agrikulturchemischer Belange (wie Sand-, Ton-, Schluff-, Humusgehalt, pH)?

b) hinsichtlich der durch verschiedene Fruchtfolgen eventuell beeinflußten und dadurch verschieden gestalteten Bodenmikrofloren?

B. Versuchsmethodik; verwendetes Material

1. Methoden

Die verwendeten Methoden entsprechen im Prinzip den bereits publizierten (Zogg 1957 b). Der Parasit *O. graminis* wurde in 300-cc-Kolben auf 7 g Terralit + 5 g Weizenstrohmehl + 50 cc synthetische Nährlösung (2 % Glukose + 1,2 ‰ Glykokoll + 1,5 ‰ KH_2PO_4 + 0,5 ‰ $MgSO_4$ + Spur $FeCl_3$ + 50 γ/l-Vitamin B_1 + 5 γ/l-Biotin) geimpft und während eines Monats bis zum vollständigen Durchwachsen des Nährmediums aufbewahrt. Darauf wurden die verschiedenen Erdproben (je Kolben 40 bis 50 g frische, sterile Erde im volumenmäßigen Verhältnis Terralit : Erde = etwa 1 : 1) zugegeben, gut durcheinandergemischt und nach verschiedenen Zeitabschnitten, von der Parasit-Erde-Mischung an gerechnet, als Infektionsmaterial auf Weizenkeimpflanzen (Testpflanzen) benutzt und auf Pathogenität geprüft. Die Weizenkörner wurden zuerst 10 Minuten in 52 °C warmem Wasser und anschlie-

Tabelle 1

Herkunftsorte der einzelnen Erdproben
Höhe über Meer; Bodencharakterisierung und Boden-pH

Herkunftsort	Höhe m. ü. M.	Bodencharakterisierung	Boden-pH
1. Irgenhausen (ZH)	550	humoser, kalkreicher, schwach sandiger Lehm	7,7
2. Brunegg (AG)	430	schwach humoser, schwach sandiger Lehm	7,0
3. Bitzi-Mosnang (SG)	760	humoser, kalkreicher, schwach toniger Lehm	7,9
4. Mammern (TG)	420	schwach humoser, schwach toniger Lehm	7,9
5. Münsingen (BE)	540	humoser, kalkreicher, schwach sandiger Lehm	7,6
6. Kirchberg (BE)	510	schwach humoser, sandiger Lehm	7,5
7. Tenniken (BL)	430	schwach humoser, schwach toniger Lehm	6,9
8. Busswil (BE)	440	schwach humoser, sandiger Lehm	8,1
9. Frienisberg (BE)	680	humusarmer, sandiger Lehm	7,2
10. Schwarzenburg (BE)	800	schwach humoser, lehmiger Sand	6,0
11. Heiligenschwendi (BE)	1120	schwach humoser, sandiger Lehm	5,9
12. Oetwil a. d. L. (ZH)	430	humoser, toniger Lehm	6,9
13. Wiedlisbach (BE)	580	schwach humoser, sandiger Lehm	7,2
14. Altdorf (UR)	450	schwach humoser, sandiger Lehm	7,8
15. Utzigen (BE)	700	schwach humoser, schwach sandiger Lehm	6,7

ßend während 2 Stunden in 5 ‰ Formalinlösung gebeizt, unter möglichst aseptischen Bedingungen 2 bis 3 Tage vorgekeimt, in Tontöpfen (zu $^2/_3$ mit Terralit gefüllt und mit Knopscher Nährlösung angefeuchtet) auf einer etwa 2 cm dicken Schicht des Parasit-Erde-Gemisches ausgelegt (20 Körner/Topf), mit Terralit zugedeckt, mit Knopscher Nährlösung angefeuchtet und unter künstlicher Beleuchtung bei Zimmertemperatur wachsen gelassen. Nach 16 bis 18 Tagen wurden die Wurzeln und der Halmgrund auf die Befallsstärke hin bonitiert (Krankheitsindizes K %; Zogg 1957 a). Die Resultate stützen sich auf fünffache Wiederholungen.

Bei der Probeentnahme der Erde auf dem Felde und zur Sicherheit nochmals kurz vor der Parasit-Erde-Mischung mußte darauf geachtet werden, daß sich in den Bodenproben keine groben Wirtspflanzenüberreste befanden, die während längerer Zeit Erreger von Fußkrankheiten beherbergen könnten.

Tabelle 2

Fruchtfolgen*) der einzelnen (in Fruchtfolgegruppen in den einzelnen Orten verwendete Typen

Fruchtfolgegruppen**)	Herkunftsort	1949	1950	1951
A	1. Irgenhausen	**W.Gerste**	Kart.	**W.Weizen**
	2. Brunegg	Klee	Klee	**W.Weizen**
	3. Bitzi	Klee	Klee	**W.Weizen**
	4. Mammern	Klee	Klee	**W.Weizen**
B	5. Münsingen	Kart.	**W.Weizen**	Klee
	6. Kirchberg	**W.Weizen**	Kart.	**W.Weizen**
	7. Tenniken	Klee	Klee	**S.Weizen**
	8. Busswil	Kart.	**W.Weizen**	Z.Rüben
C	9. Frienisberg	Klee	Klee	**W.Weizen**
	10. Schwarzenburg	**W.Weizen**	Klee	Klee
	11. Heiligenschwendi	Hafer	Klee	Klee
	12. Oetwil	Klee	Klee	Klee
D	13. Wiedlisbach	Kart.	**W.Weizen**	Klee
	14. Altdorf	Gemüse	Kart.	Gemüse
E	15. Utzigen	Klee	Klee	Kart.

*) **W-, S-Weizen = Winter-, Sommerweizen:** stark anfällig, funktioniert als Überträger.
W-Korn = Winterkorn: stark anfällig; funktioniert als Überträger.
W-, S-Gerste = Winter-, Sommergerste: stark anfällig; funktioniert als Überträger.
W-Roggen = Winterroggen: in unseren Gebieten nicht anfällig; funktioniert nicht als Überträger.
Hafer = Sommerhafer: in unseren Gebieten nicht anfällig; funktioniert nicht als Überträger.
Mais: nicht anfällig; funktioniert nicht als Überträger.
Z.Rüben = Zuckerrüben: nicht anfällig; funktionieren nicht als Überträger.
Raps = Winterraps: nicht anfällig; funktioniert nicht als Überträger.
Klee = Kleegrasmischungen: funktionieren wahrscheinlich kaum als Überträger.
Gemüse (diverse Arten): nicht anfällig; funktionieren nicht als Überträger.

Für die gewissenhafte Durchführung der Versuche möchte ich den beiden Laborantinnen Fräulein S. Giger und E. Mülhaupt bestens danken.

2. Verwendete Bodenproben

Die 15 untersuchten Bodenproben stammten aus Versuchen mit Kleegrasmischungen, die von Dr. H. Guyer in den verschiedensten Teilen der Schweiz angelegt wurden. Für seine tatkräftige Unterstützung möchte ich ihm auch hier meinen besten Dank aussprechen. Die Auswahl der Bodenproben richtete sich nach dem Anbau gleicher oder möglichst ähnlicher Kleegrasmischungen, um die Frage einer eventuellen Übertragung von Fußkrankheiten des Getreides durch verschiedene Futtergräser ausschalten zu können. Zudem wurde darauf geachtet, daß möglichst verschiedene Bodenarten und möglichst verschiedene Fruchtfolgen vertreten waren.

Tabelle 2

Herkunftsorte der Erdproben
zusammengefaßt);
von Kleegrasmischungen (vgl. Tab. 3)

1952	1953	1954	1955	1956	Kleegrasmischungen als Einsaat 1956
Raps	**S.Gerste**	Kart.	**W.Weizen**	**S.Gerste**	b
Mais	**W.Weizen**	Kart.	**W.Weizen**	**S.Gerste**	a
Kart.	**W.Weizen**	Z.Rüben	**S.Weizen**	**W.Gerste**	a
Z.Rüben	**S.Weizen**	Kart.	**W.Weizen**	**S.Gerste**	b
Klee	**W.Weizen**	**S.Gerste**	Mais	**W.Weizen**	a
S.Gerste	Kart.	**S.Weizen**	Kart.	**S.Weizen**	b
W.Weizen	Kart.	**W.Weizen**	Raps	**W.Weizen**	b
W.Weizen	Klee	**W.Weizen**	Z.Rüben	**S.Gerste**	a
Raps	Gemüse	Gemüse	Z.Rüben	**S.Gerste**	a
Klee	Klee	Hafer	Kart.	**W.Weizen**	b
Klee	Klee	Klee	Kart.	**W.Weizen**	c
Hafer	Kart.	Klee	Mais	**S.Weizen**	b
Klee	Klee	Kart.	**W.Weizen**	W.Roggen	a
Gemüse	Gemüse	Z.Rüben	**W.Weizen**	W.Roggen	a
W.Korn	Kart.	**W.Korn**	Mais	Hafer	a

**) Fruchtfolgegruppe

A: Überlastet mit anfälligen Getreidearten; in den letzten zwei Jahren vor der Probeentnahme anfällige Getreidearten angebaut.

B: Überlastet mit anfälligen Getreidearten; im letzten Jahre vor der Probeentnahme anfällige Getreidearten angebaut.

C: Nicht überlastet mit anfälligen Getreidearten; im letzten Jahre vor der Probeentnahme anfällige Getreidearten angebaut.

D: Nicht überlastet mit anfälligen Getreidearten; im letzten Jahre vor der Probeentnahme keine anfälligen Getreidearten angebaut.

E: Nicht überlastet mit anfälligen Getreidearten; in den letzten zwei Jahren vor der Probeentnahme keine anfällige Getreidearten angebaut.

(Vgl. Abbildung.)

a) Herkünfte und agrikulturchemische Charakterisierung der Bodenproben

Die Bodenproben wurden in den Kantonen Aargau (AG), Baselland (BL), Bern (BE), St. Gallen (SG), Thurgau (TG), Uri (UR) und Zürich (ZH) in Meereshöhen von 420 bis 1120 Metern, also hauptsächlich im Mittelland und Voralpengebiet, gesammelt. Nach der Bodencharakterisierung (FREI 1953), die er selbst in dankenswerter Weise vornahm, handelt es sich um tonige, schwach tonige, schwach sandige, sandige Lehme und lehmigen Sand mit verschieden großen Humusanteilen. Die Wasserstoffionenkonzentration schwankte zwischen pH 5,9 und 8,1. Diese Angaben sind für die einzelnen Orte in der Tabelle 1 zusammengestellt.

b) Eingehaltene Fruchtfolgen in den verschiedenen Orten und verwendete Kleegrasmischungen

Die Tabelle 2 gibt Auskunft über die 1949 bis 1956 in den einzelnen Orten eingehaltenen Fruchtfolgen. Dabei wurden mit anfälligem Getreide stark überlastete und nicht überlastete Fruchtfolgen in die Gruppen A—E zusammengefaßt.

Im Frühjahr wurden in die entsprechenden Getreidekulturen die Kleegrasmischungen (Tab. 3) eingesät, worauf im Frühjahr 1957 bzw. im Frühjahr 1958 (also aus 1jährigen bzw. 2jährigen Kleegrasmischungen) die Entnahme der Bodenproben erfolgte.

Tabelle 3

Zusammensetzung der im Frühjahr 1956 in Getreidekulturen eingesäten Typen von Kleegrasmischungen
(als Futtergemenge 1956 bis 1958 stehengelassen und genutzt; vgl. Tabelle 2)

Bestandteile	Kleegrasmischungen Anteile g/a		
	Typ a	Typ b	Typ c
Mattenklee (*Trifolium pratense*)	115	115	—
Rotklee, mittelspät (*Trifolium pratense*)	—	—	60
Bastardklee (*Trifolium hybridum*)	—	—	35
Fromental (*Arrhenatherum elatius*)	80	—	—
Knaulgras (*Dactylis glomerata*)	30	40	—
Wiesenschwingel (*Festuca pratensis*)	120	60	120
Timothe (*Phleum pratense*)	35	70	50
Englisch Raygras (*Lolium perenne*)	—	60	—
Goldhafer (*Trisetum flavescens*)	—	—	35
Wiesenrispengras (*Poa pratensis*)	—	—	30

C. Resultate und Diskussion

Die aus den Weizentesten erhaltenen Krankheitsindizes (Tab. 7) wurden nach verschiedenen Gesichtspunkten zusammengestellt, doch zeigte sich keine Korrelation für agrikulturchemische und geographische Belange. Für diese Zusammenstellungen (Probeentnahme in 1jährigen Kleegrasmischungen) wurden kleine Gruppen gebildet mit unter sich ähnlichen Voraussetzungen. Die Krankheitsindizes sind nur für solche Gruppen angegeben, da die Einzelwerte

Tabelle 4

Zusammenstellung der Krankheitsindizes hinsichtlich der Bodenklassifizierung (sofort, drei Wochen, zehn Wochen nach der Parasit-Erde-Mischung); Bodenprobeentnahme nach einjähriger Kleegrasmischung

Bodenart	Orte (Nr.)	Krankheitsindizes (K %) effektiv)		
		sofort	nach 3 Wochen	nach 10 Wochen
Toniger Lehm	12	52,0	35,5	7,1
Schwach toniger Lehm	3, 4, 7	64,8	44,2	7,2
Schwach sandiger Lehm	1, 2, 5, 15	55,0	37,9	7,4
Sandiger Lehm	6, 8, 9, 11, 13, 14	58,2	33,7	7,9
Lehmiger Sand	10	63,1	32,1	6,7
Grenzdifferenzen	5 %	16,6	7,2	1,9
	1 %	22,1	9,6	2,6

aus Tabelle 7 hervorgehen. Die Nummern für die einzelnen Orte entsprechen ebenfalls denjenigen der Tabelle 7.

Innerhalb der einzelnen Testzeiten nach der Parasit-Erde-Mischung bestehen keine Unterschiede hinsichtlich der Bodenarten; der Rückgang der Krankheitsindizes (entseuchende Wirkung) bis 10 Wochen nach der Parasit-Erde-Mischung verläuft unabhängig von der Bodenart in gleichsinniger Weise. Aus der praktischen Erfahrung und der Literatur (Zusammenstellung z. B. bei GARRETT 1944, S. 40 ff.) geht jedoch hervor, daß das Auftreten und die Ausbreitung von *Ophiobolus graminis* von der Bodenart (z. B. leichte, schwere Böden) abhängig sein kann. Dieser scheinbare Widerspruch ist so zu erklären, daß bei der Mischung der Erdproben mit dem Terralit des Nährsubstrates für den Parasiten Bodenstruktur, Bodentextur, Boden-pH usw. geändert werden können.

Auch in bezug auf den verschiedenen Humusgehalt sind keine Unterschiede innerhalb der einzelnen Testzeiten der Parasit-Erde-Mischung und dem Rückgang der Pathogenität innerhalb 10 Wochen festzustellen. Offenbar

Tabelle 5

Zusammenstellung der Krankheitsindizes hinsichtlich des Humusgehaltes der verschiedenen Böden (sofort, drei Wochen, zehn Wochen nach der Parasit-Erdemischung) Bodenprobenentnahme nach einjähriger Kleegrasmischung

Humusgehalt	Orte (Nr.)	Krankheitsindizes (K %) effektiv)		
		sofort	nach 3 Wochen	nach 10 Wochen
humusarm	9	52,5	37,9	7,4
schwach humos	2, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 15	58,2	35,0	8,3
humos	1, 3, 5, 12	61,1	41,8	7,4
Grenzdifferenzen	5 %	16,6	7,2	1,9
	1 %	22,1	9,6	2,6

genügte der vorhandene Humusgehalt der untersuchten Bodenproben und der Anzahl der darin enthaltenen Mikroorganismen, um eine gute bodenentseuchende Wirkung zu entfalten. In diesem Zusammenhange sei erwähnt, daß schon mit relativ geringen Kompostzugaben zu Sand eine kräftige antagonistische Wirkung gegenüber *O. graminis* und anderen Wurzelparasiten erreicht werden kann (z. B. WINTER 1942).

In bezug auf die Wasserstoffionenkonzentration der Böden und die Höhenlage der verschiedenen Orte konnten ebensowenig irgendwelche Korrelationen festgestellt werden.

Die drei verschiedenen, im Frühjahr eingesäten Kleegrasmischungen erwiesen sich als gleichartig in bezug auf die Übertragungsmöglichkeit von Getreidefußkrankheitserregern durch ihre Gräser-Komponenten. Die bodenentseuchende Wirkung blieb sich sowohl innerhalb der einzelnen Zeiten der Parasit-Erde-Mischungen als auch in der Abnahme der Pathogenität innerhalb 10 Wochen gleich (Tab. 6).

Tabelle 6

Zusammenstellung der Krankheitsindizes hinsichtlich der Kleegrasmischungen (sofort, drei Wochen, zehn Wochen nach der Parasit-Erdemischung) Bodenprobenentnahme nach einjähriger Kleegrasmischung

Kleegrasmischung	Orte (Nr.)	Krankheitsindizes (K %) effektiv)		
		sofort	nach 3 Wochen	nach 10 Wochen
Typ a	2, 3, 5, 8, 9, 13, 14, 15	55,1	34,2	7,5
Typ b	1, 4, 6, 7, 10, 12	62,1	40,9	7,3
Typ c	11	65,6	35,1	8,7
Grenzdifferenzen	5 %	16,6	7,2	1,9
	1 %	22,1	9,6	2,6

Einfluß der verschiedenen Fruchtfolgen

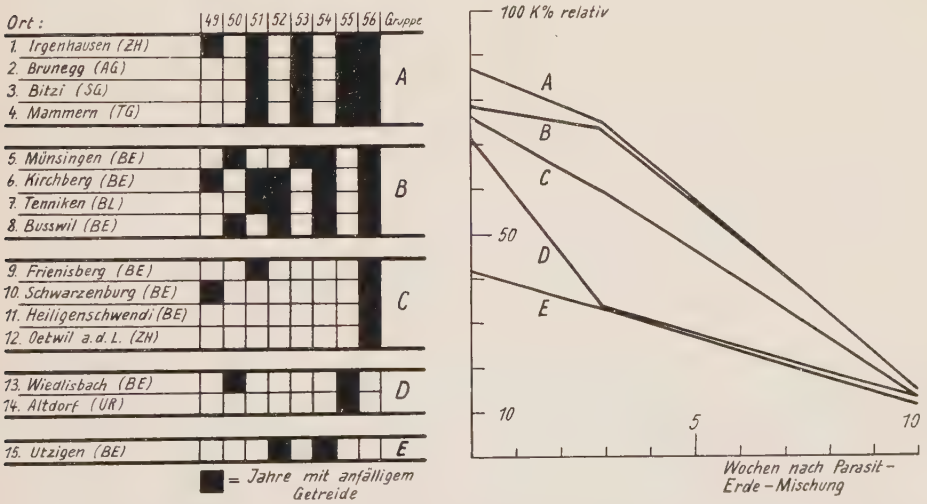
Das einzige positive Resultat ergab sich hinsichtlich der verschiedenen, an den einzelnen Orten eingehaltenen Fruchtfolgen (Tab. 7, Tab. 8, Abb.).

Die Krankheitsindizes der frischen Parasit-Erde-Mischungen lagen für die Fruchtfolgegruppen A, B, C und D relativ hoch und ergaben noch keine großen Unterschiede. Der bodenentseuchende Effekt einer geregelten Fruchtfolge zeigte sich aber bereits im letzten Beispiel (E; Ort 15; in den letzten 2 Jahren vor der Probeentnahme kein anfälliges Getreide und ohne Überlastung der Fruchtfolge mit anfälligen Getreidearten). Hieraus ist ersichtlich, daß der Parasit bereits in der kurzen Zeit von einigen Tagen zwischen der Parasit-Erde-Mischung und der erfolgreichen Infektion der Testpflanzen einem massiven Angriff durch die Bodenmikroflora dieser Erdprobe ausgesetzt war. Es muß angenommen werden, daß die Laufhyphen des Parasiten, die auf der Wurzeloberfläche wachsen und von dort die Infektionshyphen ins Innere des Wirtsgewebes entsenden, auf irgendeine, wahrscheinlich mikrobio-

logische Weise in ihrem oberflächlichen Wachstum gehemmt werden. Die Mikrofloren der übrigen Gruppen sind wahrscheinlich noch nicht so weit umgestimmt worden, um einen, diesem letzten Fruchtfolgetyp entsprechenden Wirkungsgrad erreichen zu können.

In den Testversuchen, die drei Wochen nach der Parasit-Erde-Mischung angelegt wurden, konnte eine bessere Differenzierung beobachtet werden. Die Gruppen A und B (Fruchtfolgen mit anfälligen Getreidearten stark überlastet) zeigen noch eine starke Infektion, die Gruppe C (Fruchtfolge mit anfälligen Getreidearten nicht überlastet, aber im letzten Jahre vor der Probeentnahme anfälliges Getreide aufweisend) eine mittelstarke, die Gruppen D und E (Fruchtfolgen mit anfälligen Getreidearten nicht überlastet, im letzten bzw. in den zwei letzten Jahren vor der Probeentnahme keine anfälligen Getreidearten aufweisend) eine schwache Infektion. Eine Erklärung dieser unterschiedlichen „Reaktionen" ist offensichtlich darin zu suchen, daß die Umstimmung der den verschiedenen Fruchtfolgetypen entsprechenden Mikrofloren zu dieser Zeit verschiedene Stufen bezüglich der bodenentseuchenden Fähigkeit gegenüber *O. graminis* erreicht hat.

In den Testversuchen, die zehn Wochen nach der Parasit-Erde-Mischung angelegt wurden, trat in allen Gruppen praktisch keine Infektion mehr auf. Daraus geht hervor, daß sämtliche untersuchten Ackerböden tatsächlich eine bodenentseuchende Wirkung entfalten können, daß sich aber der Endeffekt je nach Fruchtfolgetyp schneller oder langsamer einstellt (Tab. 7, Abb.).



Laboratoriumsmäßiger Nachweis der bodenentseuchenden Wirkung von Mikroorganismen-Gesellschaften (in Form von verschiedenen, nicht sterilen Bodenproben) aus Äckern mit verschiedener Fruchtfolge. — Links: Herkunftsorte der verschiedenen Bodenproben und Fruchtwechseltypen der einzelnen Orte (1949 bis 1956); Aufteilung in Fruchtfolgegruppen A bis E. — Rechts: Fortschreitende Eliminierung von *O. graminis* (entsprechender Effekt). Ordinate: Krankheitsindizes (K % relativ; bezogen auf *O. graminis* ohne Erde = 100 %); Kurven A bis E entsprechen den Fruchtfolgegruppen A bis E; Abszisse: Zeiten der Testversuche (Anlage in Wochen nach Parasit-Erde-Mischung); vgl. Tabelle 7

Tabelle 7

Biologische Einwirkung der Mikroorganismen-Gesellschaften verschiedener Böden mit verschiedenen Fruchtfolgen

(Gruppen A bis E)

auf die Pathogenität von *Ophiobolus graminis* Sacc. in verschiedenen Testversuchen sofort, bzw. 3 Wochen, bzw. 10 Wochen nach der Parasit-Erde-Mischung; Bodenprobenentnahme nach einjähriger Kleegrasmischung

Fruchtfolgegruppe	*O. graminis* + Erde von	Krankheitsindizes (K % effektiv)			Krankheitsindizes (K % relativ, bezogen auf *O. graminis*, ohne Erde = 100 %); Mittelwerte f. die einzeln. Fruchtfolgegruppen		
		sofort	nach 3 Wochen	nach 10 Wochen	sofort	nach 3 Wochen	nach 10 Wochen
A	1. Irgenhausen	68,4	44,3	7,4	86,6	74,4	13,4
	2. Brunegg	62,8	45,5	7,4			
	3. Bitzi	67,9	43,6	6,7			
	4. Mammern	65,2	43,2	7,4			
B	5. Münsingen	56,3	41,9	8,0	78,1	74,4	14,7
	6. Kirchberg	62,4	44,4	7,4			
	7. Tenniken	61,3	45,7	7,4			
	8. Busswil	58,3	45,0	8,7			
C	9. Frienisberg	52,5	37,9	7,4	76,4	59,4	14,0
	10. Schwarzenburg	63,1	32,1	6,7			
	11. Heiligenschwendi	65,6	35,1	8,7			
	12. Oetwil	52,0	35,5	7,4			
D	13. Wiedlisbach	57,2	19,1	8,7	72,3	33,3	14,4
	14. Altdorf	53,3	20,5	6,7			
E	15. Utzigen	32,4	19,9	6,7	42,4	33,6	12,5
	O. graminis ohne Erde	76,4	54,3	53,6	100,0	100,0	100,0
	Nicht infiziert	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Grenzdifferenzen 5 %	16,6	7,2	1,9	21,3	13,3	3,5
	1 %	22,1	9,6	2,6	29,0	17,7	4,8
	1 ‰	28,7	12,5	3,4	37,6	23,0	6,3

Weitere Versuche wurden mit frischen Erdproben aus denselben Orten und denselben Parzellen ein Jahr später, also nach zweijähriger Dauer der Kleegrasmischungen (Tab. 8) angelegt. In den einzelnen Fruchtfolgegruppen zeigten sich keine Unterschiede mehr bezüglich dem biologischen Abbau von *O. graminis*. Die Infektion in der ersten Zeit (d. h. mit der frischen Parasit-Erde-Mischung) ergaben überall gleich starke Infektionen. Schon zweieinhalb Wochen nach den Parasit-Erde-Mischungen waren keine Infektionen mehr festzustellen. Daraus ist zu schließen, daß sich die Bodenmikrofloren in den Gruppen A bis C bereits ein Jahr später denjenigen der Gruppen D und E angeglichen haben, soweit es die entseuchende Wirkung gegenüber *O. graminis* betrifft.

Tabelle 8

Biologische Einwirkung der Mikroorganismen-Gesellschaften verschiedener Böden mit verschiedenen Fruchtfolgen

(Gruppen A bis E)

auf die Pathogenität von *Ophiobolus graminis* Sacc. in verschiedenen Testversuchen sofort, bzw. 2½ Wochen nach der Parasit-Erde-Mischung; Bodenprobenentnahme nach zweijähriger Dauer der Kleegrasmischung

Fruchtfolgegruppe	*O. graminis* + Erde von	Krankheitsindizes		Krankheitsindizes (K % relativ, bezogen auf *O. graminis*, ohne Erde = 100 %); Mittelwerte f. die einzeln. Fruchtfolgegruppen	
		sofort	nach 2½ Wochen	sofort	nach 2½ Wochen
A	1. Irgenhausen	53,3	4,7		
	2. Brunegg	54,7	3,3		
	3. Bitzi	51,1	0,7	85,2	4,6
	4. Mammern	53,8	2,3		
B	5. Münsingen	53,7	0,7		
	6. Kirchberg	53,7	2,0	85,4	1,7
	7. Tenniken	53,0	0,7		
	8. Busswil	53,2	0,7		
C	9. Frienisberg	53,4	1,3		
	10. Schwarzenburg	53,3	0,7	85,3	1,7
	11. Heiligenschwendi	53,5	0,7		
	12. Oetwil	53,2	1,3		
D	13. Wiedlisbach	53,5	0,7	85,3	1,7
	14. Altdorf	53,2	1,3		
E	15. Utzigen	53,2	0,7	85,2	1,2
	O. graminis ohne Erde	62,5	59,0	100,0	100,0
	Nicht infiziert	0,0	0,0	0,0	0,0
	Grenzdifferenzen 5 %	1,6	2,4	2,6	4,1
	1 %	2,2	3,2	3,5	5,4
	1 ‰	2,8	4,1	4,5	7,0

Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß sich die einzelnen Fruchtfolgetypen hinsichtlich ihrer Überlastung mit anfälligen Getreidearten an Hand von Laboratoriumsversuchen gut differenzieren lassen. Die Ergebnisse deuten darauf hin, daß mit dem Anbau nicht anfälliger Kulturpflanzen die Bodenmikroflora auf irgendeine Weise quantitativ oder qualitativ oder in beiden Richtungen geändert wird. Man kann sich gut und ohne Zwang vorstellen, daß bei sukzessivem Anbau andersartiger Kulturpflanzen wegen der verschiedenartigen Wurzelausscheidungen, Pflanzenrückstände usw. die einen Glieder der Mikroorganismengesellschaft im Boden gehemmt, andere gefördert werden, was im gesamten einer sich stetig ändernden Umschichtung solcher Gesellschaften im Boden gleichkommt. Weiter ist anzunehmen, daß, wenn anfällige Getreidearten mehrere Male hintereinander auf derselben Par-

zelle angebaut werden, sich eine bestimmte Mikroorganismengesellschaft im Boden einstellt und sich über kürzere oder längere Zeit (einige Jahre) erhalten kann. Nach den vorliegenden Untersuchungen zu schließen, ist ihre Bereitschaft zu einer bodenentseuchenden Wirkung gegenüber dem Getreideparasiten *O. graminis* während dieser Zeit allerdings nur gering. Durch eine mehrjährige Unterbrechung mit Anbau andersartiger, nicht anfälliger Kulturpflanzen („geregelte Fruchtfolge") kann sie jedoch ausgelöst werden.

Frühere Untersuchungen (ZOGG 1951) zeigten, daß bei ständigem, sich über viele Jahrzehnte erstreckendem Anbau anfälliger Getreidearten die Getreidefußkrankheiten trotz der vorhandenen Stoppelüberreste im Boden und des gehäuften Anbaues kongenialer Wirtspflanzen nicht mehr stark auftreten. Vermutlich stellt sich in diesem Extremfall eine spezifische Mikroorganismengesellschaft unter Einbeziehung der Parasiten ein, die eine kräftige bodenentseuchende Wirkung entfalten muß, da auf diesen Böden bei geringstem Krankheitsbefall annähernd normale Ernten erzielt werden.

Auf Grund dieser Überlegungen scheint der entseuchende Effekt nicht nur von der Frage des Asyls (Überdauerung saprophytischer Phasen des Parasiten auf abgestorbenen Wirtspflanzenüberresten im Boden) oder der Übertragung durch kongeniale Wirtspflanzen abhängig zu sein, sondern eben auch von einer durchgreifenden Umschichtung der autochthonen Mikroorganismengesellschaft des Bodens.

Zusammenfassung

In den vorliegenden Untersuchungen wurde der Pathogenitätsverlust von *Ophiobolus graminis* Sacc. auf jungen Weizenpflanzen nach verschiedenen Zeiten (sofort, drei Wochen und zehn Wochen) geprüft, nachdem der Parasit in gut durchwachsener Reinkultur mit Erdproben verschiedener Herkunft vermischt wurde. Herkunftsorte, Charakterisierung und pH der einzelnen Bodenproben sind aus Tabelle 1, die eingehaltenen Fruchtfolgen 1949 bis 1956 aus Tabelle 2 und die im Jahre 1956 eingesäten Kleegrasmischungen aus Tabelle 2 und 3 ersichtlich. Die Bodenproben wurden für die erste Versuchsserie im Frühjahr 1957 (nach einjähriger Kleegrasmischung), für die zweite Versuchsserie im Frühjahr 1958 (nach zweijähriger Kleegrasmischung) entnommen.

Bodenart, Humusgehalt, Boden-pH, geographische Lage und die Kleegraseinsaaten zeigten keine Einflüsse auf die Pathogenität des Parasiten. In diesen Versuchen hängt die Bodenentseuchung nicht von diesen Faktoren ab (Tab. 4, 5, 6 und Text).

Positive Ergebnisse zeigten sich nur hinsichtlich der verschiedenen Fruchtfolgetypen nach einjähriger Kleegrasanlage. Die verschiedenen Fruchtfolgetypen wurden in Gruppen zusammengefaßt und deren Einflüsse auf die Pathogenität des Parasiten in Tabelle 7 und der Abbildung dargestellt.

Gruppen A und B (mit anfälligem Getreide stark überlastete Fruchtfolgen): Zu Beginn starke Infektion, dann relativ langsames Absinken der Befallskurve.

Gruppe C (mit anfälligen Getreidearten wenig belastete Fruchtfolgen; im Jahre der Kleegraseinsaat anfälliges Getreide): Zu Beginn starke Infektion, dann ziemlich rasches Absinken der Befallskurve.

Gruppe D (mit anfälligen Getreidearten wenig belastete Fruchtfolgen; im Jahre der Kleegraseinsaat kein anfälliges Getreide): Zu Beginn noch ziemlich starke Infektion, dann rasches Absinken der Befallskurve.

Gruppe E (mit anfälligen Getreidearten wenig belastete Fruchtfolgen; zwei Jahre vor der Kleegraseinsaat kein anfälliges Getreide): Bereits zu Beginn mittlere bis schwache Infektion, dann weiteres Abfallen der Befallskurve.

Nach zweijähriger Kleegrasanlage waren keine Unterschiede mehr festzustellen. Alle Gruppen zeigten zuerst eine starke, aber schon nach $2^1/_2$ Wochen keine Infektionen mehr.

Schlußfolgerungen: Neben anfälligen Pflanzen (Überträgern) und vom Parasiten besiedelten toten Pflanzenüberresten (Asyl für die saprophytische Phase des Parasiten) spielen auch die verschiedenen Gesellschaften von Mikroorganismen eine Rolle. Ihre qualitative und quantitative Zusammensetzung ändert sich sehr wahrscheinlich mit der eingehaltenen Fruchtfolge, was sich in den verschiedengestalteten, bodenentseuchenden Fähigkeiten in den einzelnen Fruchtfolgegruppen gegenüber O. *graminis* anzeigt.

Summary

The loss of pathogenicity of O. *graminis* on young wheat-plants (test-plants) was studied at different times (immediately, three weeks, ten weeks) after mixing the cultures of the parasite with the soil samples originating from 15 different locations with different types of crop rotations. The methods used showed no differences concerning localities, soil characteristics, humus content and soil-pH (tables 4, 5, 6 and text). Differences in pathogenicity could not be noted but in direct connection with the types of practised crop rotation (in a one year old clover-grass-mixture).

The types of crop rotations at the different locations are given for the years 1949—1956 in table 2. In spring 1956 at all places a clover-grass-mixture was undersown. In spring 1957 the first, in spring 1958 the second series of fresh soil samples were drawn. Groups (A—E) were formed with similar types of crop rotations and the influence of the pathogenicity (soil disinfecting effect) was determined (disease index method) for each soil sample subsequent to the above mentioned intervals (table 7 and figure for one year old, table 8 for two years old clover-grass-mixtures).

First series (soil sample collected in spring 1957):

Groups A and B (crop rotation crowded with susceptible cereals): At the first time (infection with the immediate mixture of the parasite-cultures with the soil samples) a high infection degree occurred, at the second time (three weeks old mixture) and the third time (10 weeks old mixture) the curve of pathogenicity showed a relatively slow decrease.

Group C (crop rotation not crowded with susceptible cereals, but in the year of undersowing the clover-grass-mixture cultures of susceptible cereals): Infections at the first time showed a high disease index, at the second and third time a relatively quick decrease.

Group D (crop rotation not crowded with susceptible cereals; one year before undersowing the clover-grass-mixture cultures of susceptible cereals): First a rather high disease index, later on a quick decrease.

Group E (crop rotation not crowded with susceptible cereals; two years before undersowing the clover-grass-mixture cultures of susceptible cereals): Already at the first time a moderate infection occurred, and the curve of the disease index dropped at the subsequent times rather quickly towards the minimum.

Second series (soil samples collected in spring 1958): No differences were found anymore in the pathogenicity of O. *graminis* in all groups A—E. Already at the end of two weeks and a half no infection occurred anymore.

Conclusions: Beside the living host plants acting as carriers of the disease and beside the plant residues in the soil acting as an asylum for the parasite, the composition of the associations of micro-organisms in the soil is of great importance. Probably the composition of the differently composed microfloras is changed quantitatively and (or) qualitatively following the practised type of crop rotation demonstrated by the different soil disinfecting abilities of the different groups of crop rotation. It is plausible that the composition of such associations varies from soil to soil, but the effect of a biological disinfection of the soil following a good crop rotation is always the same: elimination of the parasite. It seems that this "reaction" is still unspecific.

Literaturverzeichnis

Frei, E., 1953: Beurteilung der Körnung des Bodens nach dem Dreieckdiagramm 1953. Landw. Jb. d. Schweiz (67. Jg.), N. F. 2. Jg., 575—580.

Garrett, S. D., 1944: Root disease fungi. Verlag Waltham, Mass., USA. 1. Auflage, 177 Seiten.

Winter, A. G., 1942: Der Einfluß partieller Sterilisation des Bodens auf die Entwicklung der Laufhyphen von *Ophiobolus graminis*. Phytopath. Z. **14**, 204—302.

Zogg, H., 1951: Studien über die Pathogenität von Erregergemischen bei Getreidefußkrankheiten. Phytopath. Z. **18**, 1—54.

— —, 1957 a: Über die Beeinflussung von Pathogenität und Wachstum pflanzlicher Parasiten. II. Vitamine B_1 und Biotin. Phytopath. Z. **29**, 65—71.

— —, 1957 b: Studien über die biologische Bodenentseuchung. I. Einfluß der Bodenmikroflora auf *Ophiobolus graminis* Sacc. (Methodik). Phytopath. Z. **30**, 315—326.

Soeben erschienen:

Die technische Durchführung von Feldversuchen

Von FRITZ WAGNER

Technischer Leiter des Versuchsfeldes an der Staatlichen Lehr- und Versuchsanstalt für Grünlandwirtschaft und Futterbau Eichhof — Bad Hersfeld

176 Seiten mit 63 Textabbildungen. Halbleinen DM 19,80

Ein Feldversuch mit brauchbaren und exakten Ergebnissen bedarf hinsichtlich seiner technischen Durchführung sehr sorgfältiger Vorbereitungen. Die bisher fehlende ausführliche Behandlung dieses Stoffgebietes bietet nunmehr das vorliegende Buch, das in seinem Inhalt ganz auf die praktischen Belange der Versuchstechnik ausgerichtet ist. Ausgehend von den vorbereitenden Maßnahmen werden im Anschluß daran alle Fragen erörtert, die die Behandlung des Versuches während der Vegetation und bei der Ernte betreffen. Dabei erfolgt mit Hilfe konkreter Zahlenangaben in Tabellenform eine weitgehende Unterrichtung über die Größenordnung von Anbaudaten. Die als Anleitung für die Versuchsdurchführung angeführten Formulare zusammen mit den zahlreichen Fotos und schematisch-zeichnerischen Darstellungen tragen dazu bei, eine einwandfreie technische Durchführung von Feldversuchen ohne weitere Unterlagen zu ermöglichen.

Leitfaden des Pflanzenschutzes im Zierpflanzenbau

Von Dr. H. PAPE

1958. 132 Seiten mit 47 Abbildungen. Kartoniert DM 9,80

Dieser neue Leitfaden vermittelt in kurzgefaßter und verständlicher Form die Kenntnis der wichtigsten Krankheiten und Schädigungen, führt in die Praxis der Bekämpfung ein, erläutert Methoden, Mittel und Geräte des Pflanzenschutzes und führt schließlich in der alphabetischen Reihenfolge der Zierpflanzen die allgemeinen und besonderen Krankheiten, Schädlinge und Schädigungen einzelner Zierpflanzenarten und -gattungen auf.

„Hier hat der bekannte Verfasser ein wirklich schon notwendig gewesenes, praktisches kleines und vor allem billiges Büchlein zusammengestellt, das das wirklich Notwendige in konzentrierter, aber doch leichtfaßlicher Form enthält. Die Wichigkeit eines solchen Buches für den ernsthaften Fachmann muß nicht erst betont werden." Gartenzeitung, Wien

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

HANDBUCH DER PFLANZENZÜCHTUNG

Begründet von TH. ROEMER und W. RUDORF

2. Auflage in 6 Bänden

Unter Mitwirkung zahlreicher Wissenschaftler und in Gemeinschaft mit den Professoren Dr. H. K. HAYES, St. Paul (USA), und Dr. A. MÜNTZING, Lund (Schweden)

herausgegeben von

Prof. Dr. H. KAPPERT, Berlin, und Prof. Dr. W. RUDORF, Köln-Vogelsang

Bisher sind vollständig erschienen:

Band I: Grundlagen der Pflanzenzüchtung

872 Seiten mit 175 Abbildungen. Subskriptionspreis Ganzleinen DM 160,—
Dieser Band kann auch einzeln bezogen werden. Einzelpreis DM 192,—

Inhalt: Biologisch-genetische und physiologische Grundlagen der Züchtung — Methoden der Züchtung — Biometrie der Pflanzenzüchtung

Band II: Züchtung der Getreidearten

631 Seiten mit 94 Abbildungen. Nicht einzeln lieferbar.
Subskriptionspreis Ganzleinen DM 122,—

Inhalt: Roggen — Mais — Weizen — Gerste — Hafer — Panicum- und Setaria-Hirsen Sorghum and Pearl Millet

Band III: Züchtung der Knollen- und Wurzelfruchtarten

351 Seiten mit 59 Abbildungen. Nicht einzeln lieferbar.
Subskriptionspreis Ganzleinen DM 73,—

Inhalt: Kartoffeln — Beta-Rüben — Brassica-Rüben — Topinambur

Die jetzt erscheinende Neuauflage dieses internationalen Standardwerkes bringt eine zeitnahe und erschöpfende Darstellung der derzeitigen Kenntnisse auf dem Gebiet der Pflanzenzüchtung zur quantitativen Vermehrung und qualitativen Verbesserung der menschlichen Ernährung, zeigt die Leistungen und Leistungsmöglichkeiten der modernen Pflanzenzüchtung auf und regt somit Praxis und Forschung zu weiterer erfolgreicher Arbeit an. Die große Zahl der Mitarbeiter aus dem Auslande erhöht die Bedeutung des umfassenden Werkes und sichert ihm das Interesse der Hochschullehrer, Forscher und Studierenden des Pflanzenbaues, der Pflanzenzüchtung, der Vererbungslehre und der allgemeinen Biologie sowie der praktisch arbeitenden Pflanzenzüchter, Wirtschaftsberater und Landwirte in aller Welt. Die Originalbeiträge erscheinen in deutscher oder englischer Sprache.

Im Erscheinen begriffen:

Band IV: **Züchtung der Futterpflanzen**

Band V: **Züchtung der Sonderkulturen**

(Öl-, Eiweiß-, Faser- und Gewürzpflanzen sowie Drogen)

Band VI: **Züchtung von Obst, Gemüse, Reben und Forstpflanzen**

Erscheinungsweise: Die 2. Auflage erscheint in etwa 40 monatlichen Lieferungen, von denen bisher 27 erschienen sind. Die Lieferung umfaßt 5 Bogen zu je 16 Seiten. Ermäßigter Subskriptionspreis der Lieferung DM 13,50, der mit der letzten Lieferung erlischt. Einbanddecken werden am Schluß jedes Bandes ausgegeben und gesondert berechnet. Die Subskription verpflichtet zur Abnahme des Gesamtwerkes.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Verlag: Paul Parey, Berlin SW 61, Lindenstraße 44-47, Tel. 61 44 68/69. — Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Straße 19.
Printed in Germany (West-Berlin). Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe vorbehalten. — Erscheinungsweise: Jährlich etwa 10—12 Hefte (4 Hefte = 1 Band).